

# Emission de *Trypanosoma congolense* dans la salive et dans la goutte anale chez *Glossina morsitans morsitans* et *Glossina tachinoides* (Diptera : Glossinidae) au laboratoire

A.M. Gidudu<sup>1</sup> D. Cuisance<sup>2</sup> J.M. Reifenberg<sup>2</sup>

J.L. Frézil<sup>3</sup>

## Mots-clés

*Glossina morsitans morsitans* - *Glossina tachinoides* - *Trypanosoma congolense* - Salive - Goutte anale - Maturation - Vecteur de maladie.

## Résumé

La dynamique d'émission de *T. congolense* souche EATRO 325 (type savannah) est suivie quantitativement et qualitativement par examen microscopique du salivat et de la goutte anale récupérés tous les trois jours selon une méthode mise au point chez *G. m. morsitans* (mâles et femelles) et *G. tachinoides* (femelles). Chez ces deux glossines, l'apparition des trypanosomes a lieu à 3 jours dans la goutte anale et à 14 jours dans la salive. Le pourcentage moyen de glossines à salive positive sur la durée d'observation (60 jours) est identique chez les mâles et les femelles de *G. m. morsitans* (21,30 et 24,50 p. 100). Il est très supérieur à celui des *G. tachinoides* femelles (12,50 p. 100). Avec l'âge, le pourcentage de salivats positifs tend à s'accroître chez les femelles. Dès les premiers salivats positifs (14<sup>e</sup> jour), l'éjection des trypanosomes est plus intense chez les femelles que chez les mâles de *G. m. morsitans*. Elle est également importante chez les femelles de *G. tachinoides*. Le nombre moyen de trypanosomes émis fluctue beaucoup (1 à 500) à chaque essai. Si l'apparition des formes courtes métacycliques est précoce (14<sup>e</sup> jour), celles-ci deviennent progressivement dominantes par rapport aux formes longues, mais de façon plus rapide chez les femelles que chez les mâles de *G. m. morsitans* et que chez les femelles de *G. tachinoides*. Le pourcentage moyen de gouttes anales positives sur 60 jours n'est pas différent de celui des salivats pour les femelles de *G. m. morsitans* et de *G. tachinoides* mais inférieur pour les mâles de *G. m. morsitans*. Les deux sexes de *G. m. morsitans* manifestent cependant le même taux de maturation (trypanosomes dans la salive). Les courbes d'émission dans les deux liquides sont très voisines. L'examen de la goutte anale révèle de grandes fluctuations d'émission (1 à 1 000 trypanosomes). L'association de l'examen des deux liquides offre la possibilité de suivre la dynamique d'installation et de maturation des trypanosomes à évolution cyclique chez l'insecte vivant.

## ■ INTRODUCTION

Afin de mieux comprendre l'épidémiologie des trypanosomoses, il est important de mieux connaître les mécanismes de transmission de la maladie par les vecteurs. Dans de nombreuses situations en Afrique, le taux de glossines trouvées infectantes est faible par rapport aux prévalences rencontrées chez les hôtes mammifères présents dans les mêmes sites (2, 23). Ce paradoxe a suscité plu-

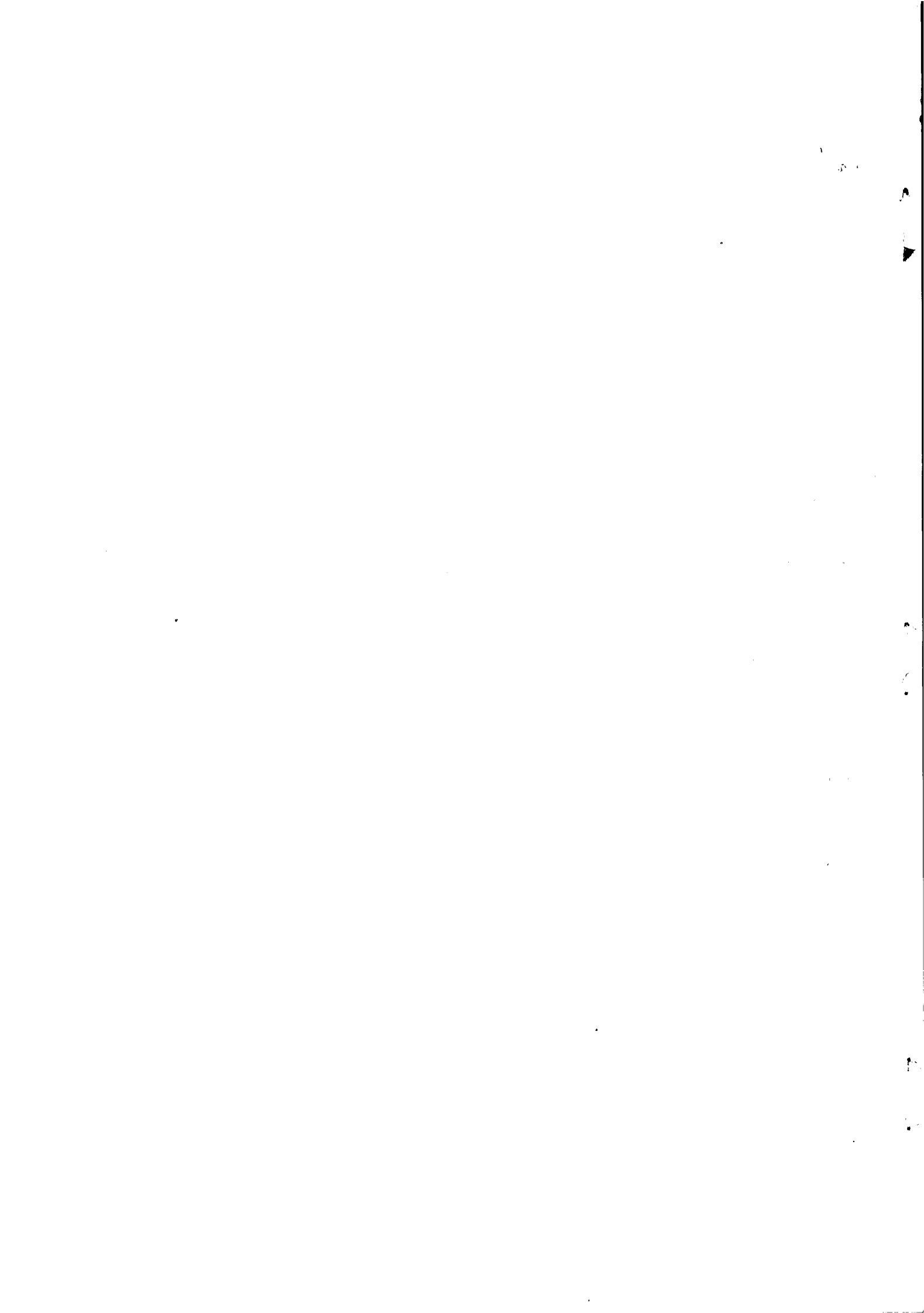
sieurs hypothèses. L'examen parasitologique des organes disséqués des glossines est parfois mis en cause (25). La transmission mécanique par d'autres diptères hématophages, bien que difficile à mettre en évidence, est également souvent suspectée. Elle amplifierait parfois considérablement la maladie (13, 33). Néanmoins, l'explosion de foyers pourrait être due aussi à une compétence vectorielle (26) particulièrement efficace des glossines concernées (27). Abstraction faite des facteurs extrinsèques intervenant dans la capacité vectorielle des glossines (27), la connaissance du statut infectant du vecteur et de la circulation du parasite à un instant donné chez le vecteur apparaît d'un grand intérêt (11). Les progrès considérables dans le domaine de la biologie moléculaire ont permis l'élaboration de méthodes spécifiques, sensibles et de plus en plus accessibles pour caractériser les trypanosomes chez les hôtes vertébrés et invertébrés (15, 16). Néanmoins, toutes ces techniques

1. Ministry of Agriculture, Animal Industry and Fisheries, Dept. of Entomology, PO Box 102, Entebbe, Uganda

2. CIRAD-EMVT, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

3. ORSTOM. Département Santé, BP 5045, 34032 Montpellier Cedex 1, France





nécessitent en général la dissection préalable des glossines vectrices. De plus, elles sont lourdes et onéreuses pour un emploi répété, ce qui interdit toute observation continue sur l'insecte vivant en vue d'appréhender concrètement quelques aspects des relations complexes liant les parasites et leurs vecteurs.

La technique de salivation, qui a été réhabilitée et améliorée (4, 5), offre la possibilité de quantifier la dynamique d'émission des parasites chez l'insecte vivant. De plus, la recherche des trypanosomes dans la goutte anale (formes non infectantes chez *T. congolense*), qui est excrétée à la suite du repas sanguin de la glossine (1), est un moyen d'observation qui n'a pas été exploré et qui peut offrir des perspectives intéressantes.

L'objectif de cette étude était donc de suivre dans le temps, chez la glossine, la dynamique d'émission des trypanosomes, non seulement dans leur salive, mais également dans la goutte anale émise dès la fin du repas de sang.

## ■ MATERIEL ET METHODE

Cette étude a été réalisée sur *Glossina morsitans morsitans* Westwood, 1850 originaire du Zimbabwe, et *Glossina tachinoides* Westwood, 1850 originaire du Burkina-Faso. Ces deux glossines provenaient de l'élevage commun CIRAD-ORSTOM de Montpellier.

Le parasite utilisé pour infecter les glossines était *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* Broden, 1904, souche EATRO 325 (type savannah), isolée en Ouganda (30).

Des lots de glossines ténères (âgées de 1 à 2 jours) et vierges (37 mâles et 40 femelles de *G. m. morsitans* ; 35 femelles de *G. tachinoides*) sont nourries à deux reprises sur un lapin infecté par *T. congolense* dont la parasitémie était comprise entre  $0,5 \cdot 10^6$  et  $2 \cdot 10^6$  trypanosomes par ml (estimée selon la méthode de Herbert et Lumsden) (7). Chaque mouche était placée dans un tube en verre (2 cm de diamètre et 10 cm de hauteur) rendu opaque sur les trois quarts de sa longueur afin de provoquer son déplacement vers la partie ouverte éclairée, 72 h après le dernier repas infectant. Celle-ci, recouverte par un morceau de tulle moustiquaire, était placée juste au dessus d'une goutte de PSG (tampon phosphate salin glucosé) placée sur la lame chauffée ( $38^\circ\text{C} \pm 1$ ) sans la tou-

cher. Le proboscis de l'insecte, en position de piqûre, est amené à la sonder 10 fois (4, 5). La goutte, recouverte d'une lamelle, était observée directement au microscope afin de mettre en évidence et de quantifier le nombre de trypanosomes émis.

Immédiatement après ce test de salivation, le morceau de tulle était retiré et le tube contenant la mouche était placé directement sur l'oreille d'un lapin nourricier sain. La glossine prenait ainsi son repas sanguin, au terme duquel la goutte anale était récupérée sur une lame glissée discrètement sous le tube et insérée délicatement sous l'abdomen. La goutte anale était ensuite observée entre lame et lamelle au microscope pour la détection des trypanosomes.

Ce protocole était répété pour chaque mouche toutes les 72 h pendant 60 jours. Après chaque test, les glossines appartenant à un même lot étaient regroupées dans une même cage.

La parasitémie du lapin nourricier était quotidiennement surveillée. Dès l'apparition des parasites, l'animal était immédiatement traité par un trypanocide (acéturate de diminazène, Bérénil® à 7,0 mg/kg) et remplacé par un autre lapin sain.

## ■ RESULTATS

### *Dynamique d'émission des trypanosomes dans la salive*

#### *Evolution des pourcentages de glossines à salive positive (figure 1, tableau I)*

Chez les *G. m. morsitans* mâles, ces pourcentages s'accroissaient à partir du 14<sup>e</sup> jour pour atteindre un maximum de 35,3 p. 100 au 28<sup>e</sup> jour. Chez les femelles, le pourcentage de glossines infectantes fluctuait également à partir du 14<sup>e</sup> jour mais avec une tendance à s'accroître avec l'âge des glossines. Le pic maximal était à 57 jours (33,3 p. 100).

Au début de l'apparition des salivats positifs (14<sup>e</sup> jour), les pourcentages d'individus infectants n'étaient pas significativement différents entre mâles et femelles ( $\Sigma = 0,9$  ; N.S.).

La comparaison des pourcentages maximaux de glossines infectantes (à 28 jours pour les mâles et à 57 jours pour les femelles) n'indiquait pas de différence significative entre les mâles et les femelles ( $\Sigma = 0,70$  ; N.S. et  $\Sigma = 0,39$  ; N.S.).

TABEAU I

Résultats globaux : pourcentages moyens de glossines infectantes (dans la salive) et infectées (dans la goutte anale) ; nombre moyen de trypanosomes/essai dans les deux liquides

		<i>G. m. morsitans</i>		<i>G. tachinoides</i>
		mâles	femelles	femelles
Nb. moyen de glossines examinées par essai :		31,6 (e.t. = 5,5)	32,8 (e.t. = 5,3)	32,7 (e.t. = 3,3)
	Pourcentage d'individus infectés/essai :	salive	21,3 (e.t. = 6,4)	24,5 (e.t. = 16,3)
goutte anale		11,7 (e.t. = 7,6)	21,5 (e.t. = 16,3)	18,3 (e.t. = 16,3)
Nb. moyen de trypanosomes/individu :	salive	32,5 (e.t. = 35,5)	26,8 (e.t. = 27,0)	23,4 (e.t. = 28,2)
	goutte anale	114,4 (e.t. = 262,8)	35,0 (e.t. = 32,9)	11,7 (e.t. = 11,8)

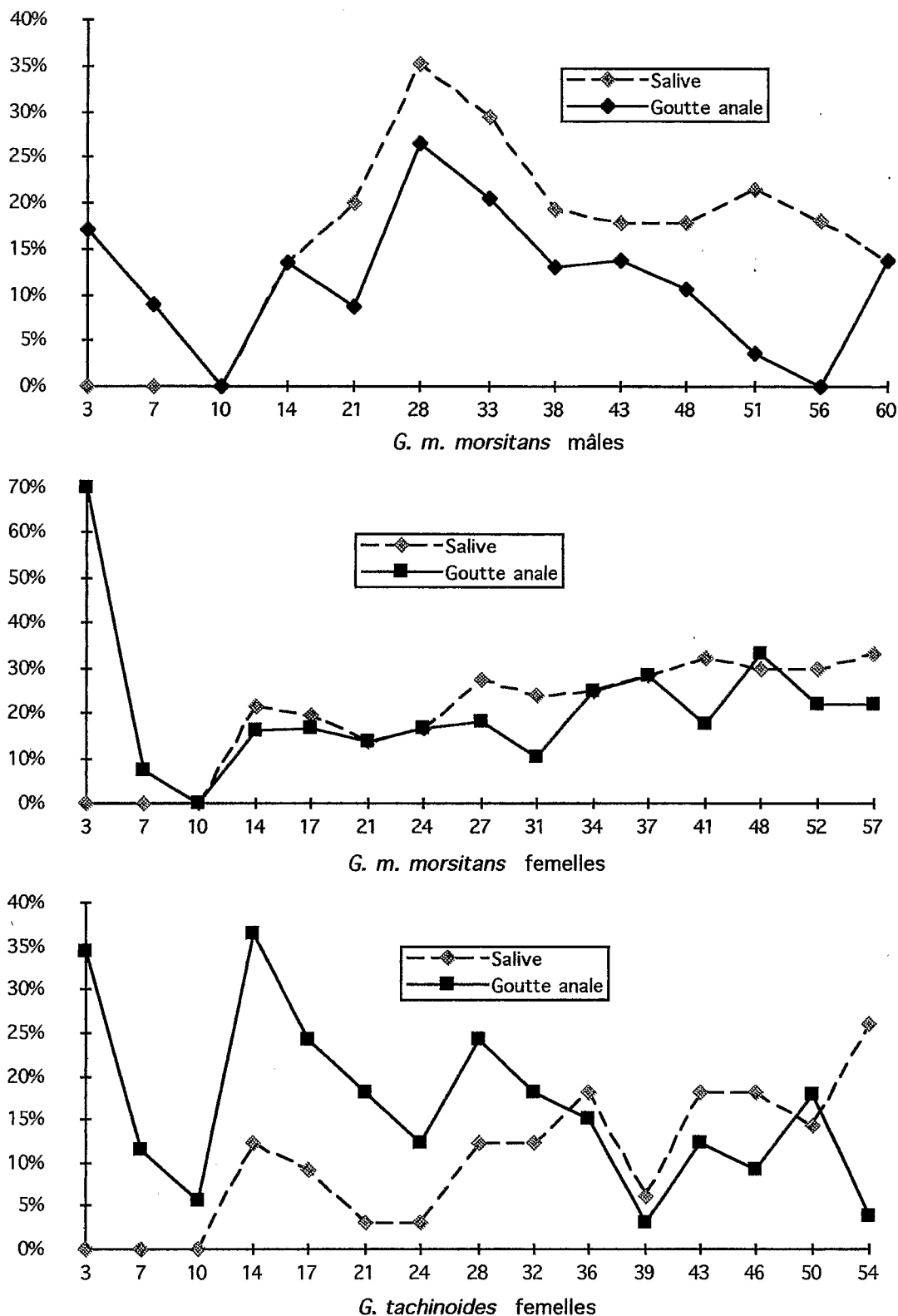


Figure 1 : pourcentages de glossines infectées dans la salive et dans la goutte anale au cours de chaque essai pendant 60 jours d'observation.

La comparaison des pourcentages moyens de glossines infectantes montrait qu'il n'y avait pas de différence significative entre les mâles (21,3 p. 100) et les femelles (24,5 p. 100) de *G. m. morsitans* sur la durée totale d'observation ( $\Sigma = 0,95$  ; N.S.).

Chez les *G. tachinoides* femelles, ces pourcentages fluctuaient entre 3,0 p. 100 et 25,9 p. 100 avec une moyenne de 12,5 p. 100,

donc à un niveau inférieur à celui des femelles de *G. m. morsitans* ( $\Sigma = 4,26$  ; H.S.), mais avec la même tendance d'accroissement avec l'âge.

Au début de l'apparition des salivats positifs (14<sup>e</sup> jour), les pourcentages d'individus infectants n'étaient pas significativement différents entre les deux lots de femelles ( $\Sigma = 1,05$  ; N.S.), mais les

pourcentages moyens étaient significativement différents sur la durée totale d'observation (14 à 57 jours) entre *G. tachinoides* (12,5 p. 100) et *G. m. morsitans* (24,5 p. 100) ( $\Sigma = 4,26$  ; H.S.).

La comparaison des pourcentages maximaux de femelles infectantes de *G. tachinoides* (25,9 p. 100 à 54 jours) et de *G. m. morsitans* (33,3 p. 100 à 57 jours) montrait qu'il n'y avait pas de différence pour ce sexe entre les deux espèces ( $\Sigma = 0,59$  ; N.S.).

#### Evolution de la positivité du groupe trouvé infectant

En nous référant au nombre maximal de glossines émettant des trypanosomes (12 chez les *G. m. morsitans* mâles, 9 chez les *G. m. morsitans* femelles et 7 chez les *G. tachinoides* femelles), l'évolution dans le temps était la suivante :

- chez les mâles de *G. m. morsitans* le pourcentage de glossines infectantes évoluait de 25 p. 100 à 100 p. 100 à chaque essai ( $n = 10$ ) avec une moyenne de 53,3 p. 100 (e.t.\* = 21,5) chez *G. m. morsitans*, ce qui indique qu'un peu plus de la moitié des glossines infectantes mâles émettaient des trypanosomes à chaque essai ;

- chez les femelles, les glossines à salivat positif variaient de 55,6 p. 100 à 100 p. 100 à chaque essai ( $n = 12$ ) avec une moyenne de 84,2 p. 100 (e.t. = 13,7).

Les femelles présentaient une proportion plus grande de salivats positifs que les mâles à chaque essai mais la différence était non significative ( $\Sigma = 2,16$  ; N.S.).

Chez les *G. tachinoides* femelles, le pourcentage de glossines émettant des trypanosomes également à partir du 14<sup>e</sup> jour variait de 14,3 p. 100 à 100 p. 100 ( $n = 12$ ) avec une moyenne de 57,1 p. 100 (e.t. = 28,5).

#### Evolution du nombre moyen de trypanosomes (figure 2)

Le nombre moyen de trypanosomes par individu et par essai était de 32,5 (e.t. = 35,5) chez les *G. m. morsitans* mâles ( $n = 10$  essais), de 26,8 (e.t. = 27,0) chez les *G. m. morsitans* femelles ( $n = 12$  essais) et de 23,4 (e.t. = 28,2) chez les *G. tachinoides* femelles (12 essais).

Les écarts-types étaient très larges indiquant une grande variation d'émission entre les individus (1 à 500 trypanosomes) et d'un essai à l'autre. Cette dispersion des données ne permettait pas l'emploi des tests statistiques classiques. Les tendances ont été comparées sur les graphiques.

Chez *G. m. morsitans*, dès le premier jour d'apparition des trypanosomes dans la salive (14<sup>e</sup> jour), leur nombre était élevé tant chez les mâles que chez les femelles et décroissait rapidement (dès le 17<sup>e</sup> jour) avec une tendance à se stabiliser jusqu'au 60<sup>e</sup> jour.

Chez les *G. tachinoides* femelles, l'effectif des trypanosomes par salivat à partir du 1<sup>er</sup> jour d'apparition (14<sup>e</sup> jour) était très bas et ne s'accroissait fortement qu'au 21<sup>e</sup> jour, puis tendait à se stabiliser jusqu'à la fin de l'observation.

#### Evolution des proportions relatives des formes de trypanosomes (figure 3)

Des formes longues (épimastigotes) et des formes courtes (métrypanosomes infectants) étaient émises simultanément par les glossines à chaque sondage. Les formes courtes, reconnues classiquement comme infectantes (8) et les plus importantes épidémiologiquement, ont été observées dans cette étude.

\* e.t. (écart-type)

Chez les *G. m. morsitans* mâles, l'apparition de formes courtes avait lieu dès le 14<sup>e</sup> jour et se maintenait à un haut niveau (supérieur à 40 p. 100) à partir de 33 jours pour atteindre un pic de 98,4 p. 100 au 48<sup>e</sup> jour.

Chez les *G. m. morsitans* femelles, l'apparition des formes courtes se situait également au 14<sup>e</sup> jour et se maintenait à un haut niveau (supérieur ou égal à 50 p. 100) à partir du 24<sup>e</sup> jour pour atteindre le pic de 98 p. 100 à 27 jours, puis il y avait une tendance à la stabilité.

Chez les *G. tachinoides* femelles, l'apparition des formes métacycliques se situait également au 14<sup>e</sup> jour mais le niveau restait bas jusqu'au 24<sup>e</sup> jour, puis augmentait pour devenir très élevé au 36<sup>e</sup> jour avec un pic de 100 p. 100 à 39 jours, suivi d'une relative tendance à la stabilité.

Avec l'âge, le nombre de glossines à salive infectante tendait à s'accroître, en particulier chez les femelles.

Les pourcentages moyens de formes courtes dans la salive étaient les suivants pendant la durée totale d'observation : *G. m. morsitans* mâles : 52,1 p. 100 (e.t. = 27,7) ; *G. m. morsitans* femelles : 71,8 p. 100 (e.t. = 31,4) ; *G. tachinoides* femelles : 56,0 p. 100 (e.t. = 39,3).

Par rapport à *G. m. morsitans* chez laquelle l'élévation des pourcentages de formes courtes était plus précoce (à 24 jours pour les femelles et à 33 jours pour les mâles), le pourcentage de formes courtes chez *G. tachinoides* augmentait tardivement, à partir de 36 jours.

#### Dynamique d'émission des trypanosomes dans la goutte anale

##### Evolution du pourcentage de glossines à goutte anale positive (figure 1, tableau I)

Chez les *G. m. morsitans* mâles, l'apparition des trypanosomes dans la goutte anale était constatée dès le 3<sup>e</sup> jour (1<sup>er</sup> jour du test) avec 16,2 p. 100 de gouttes anales positives. Mais les pourcentages montraient de grandes fluctuations, entre 0 p. 100 et 26,4 p. 100, avec une moyenne de 11,7 p. 100 (e.t. = 7,6) pendant les deux mois d'observation.

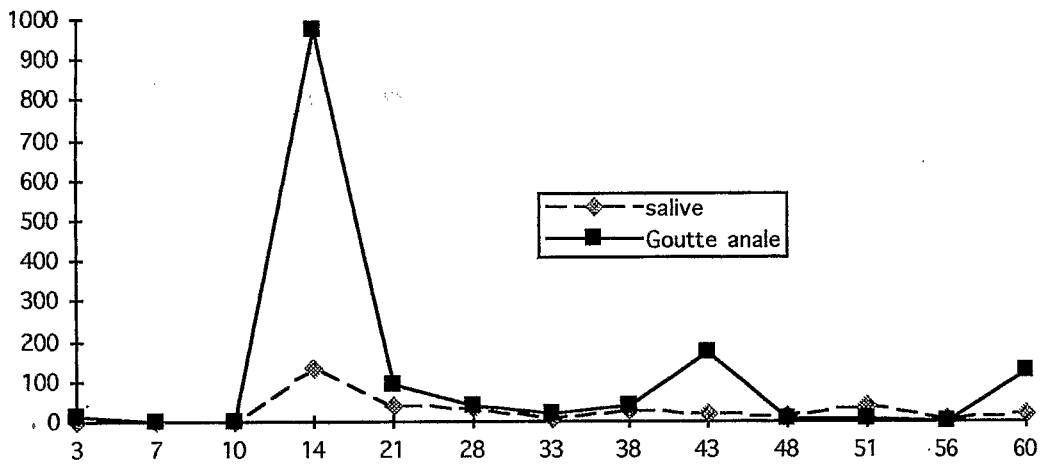
Chez les *G. m. morsitans* femelles, l'apparition des trypanosomes dans la goutte anale était observée également dès le 3<sup>e</sup> jour mais concernait un pourcentage d'individus beaucoup plus élevé (70 p. 100), avec de grandes fluctuations entre 0 p. 100 et 70,0 p. 100 et une moyenne de 21,6 p. 100 (e.t. = 16,34) pendant les deux mois d'observation.

Chez les *G. tachinoides* femelles, l'apparition des trypanosomes se situait aussi à 3 jours avec 34,3 p. 100 de gouttes anales positives et également de grandes fluctuations, entre 5,0 et 34,3 p. 100 avec une moyenne de 18,3 p. 100 (e.t. = 16,3).

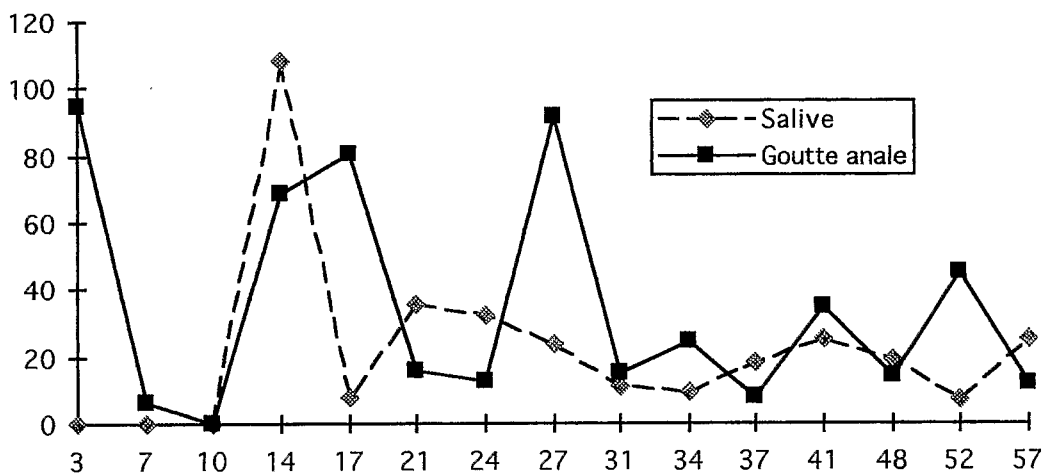
##### Evolution du nombre moyen de trypanosomes (figure 2)

Le nombre moyen de trypanosomes émis par essai et par individu dans la goutte anale pendant 60 jours d'observation était de 114,4 (e.t. = 268,8) chez les mâles ( $n = 12$ ) et de 35,0 (e.t. = 32,9) chez les femelles ( $n = 15$ ) de *G. m. morsitans*. Il était de 11,7 (e.t. = 11,8) chez les *G. tachinoides* femelles. Comme pour l'émission de parasites dans la salive, la dispersion des valeurs autour de la moyenne était très grande.

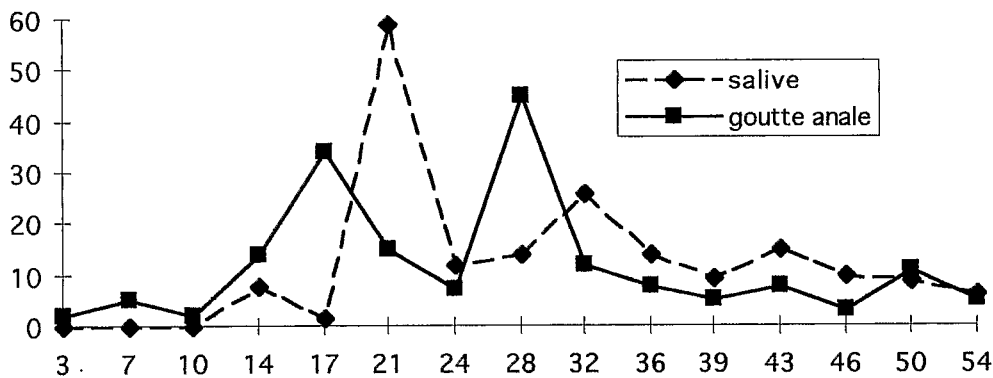
L'évolution du nombre de trypanosomes dans la goutte anale était assez semblable entre 3 et 14 jours chez les deux espèces et les deux sexes avec une décroissance rapide entre 3 et 10 jours. Après



*G. m. morsitans* mâles



*G. m. morsitans* femelles



*G. tachinoides* femelles

Figure 2 : nombre moyen de trypanosomes dans la salive et dans la goutte anale par glossine et par essai pendant 60 jours d'observation.

ce délai, l'évolution était très fluctuante avec des quantités de trypanosomes variant de 0 à près de 1000 par goutte.

■ DISCUSSION

Dans le cadre de cette expérience faite au laboratoire (température constante de 24°C), la durée minimale d'installation du cycle évolutif du parasite était identique pour les deux espèces de glossines (14 jours), et correspondait aux données classiques sur le développement de *T. congolense* type savannah (8, 9, 11). Cependant, le

pourcentage de glossines émettrices de trypanosomes était plus élevé chez *G. m. morsitans* que chez *G. tachinoides*, ceci confirmant la compétence vectorielle supérieure des glossines du groupe *morsitans* vis à vis de *T. congolense* observée fréquemment sur le terrain (27) et au laboratoire (22, 27).

Par ailleurs, ce pourcentage tendait à s'accroître avec l'âge des individus, comme cela a été constaté sur le terrain (3, 28).

Si, dans les conditions protégées du laboratoire, les deux sexes avaient une chance égale de survie (environ 60 jours d'observa-

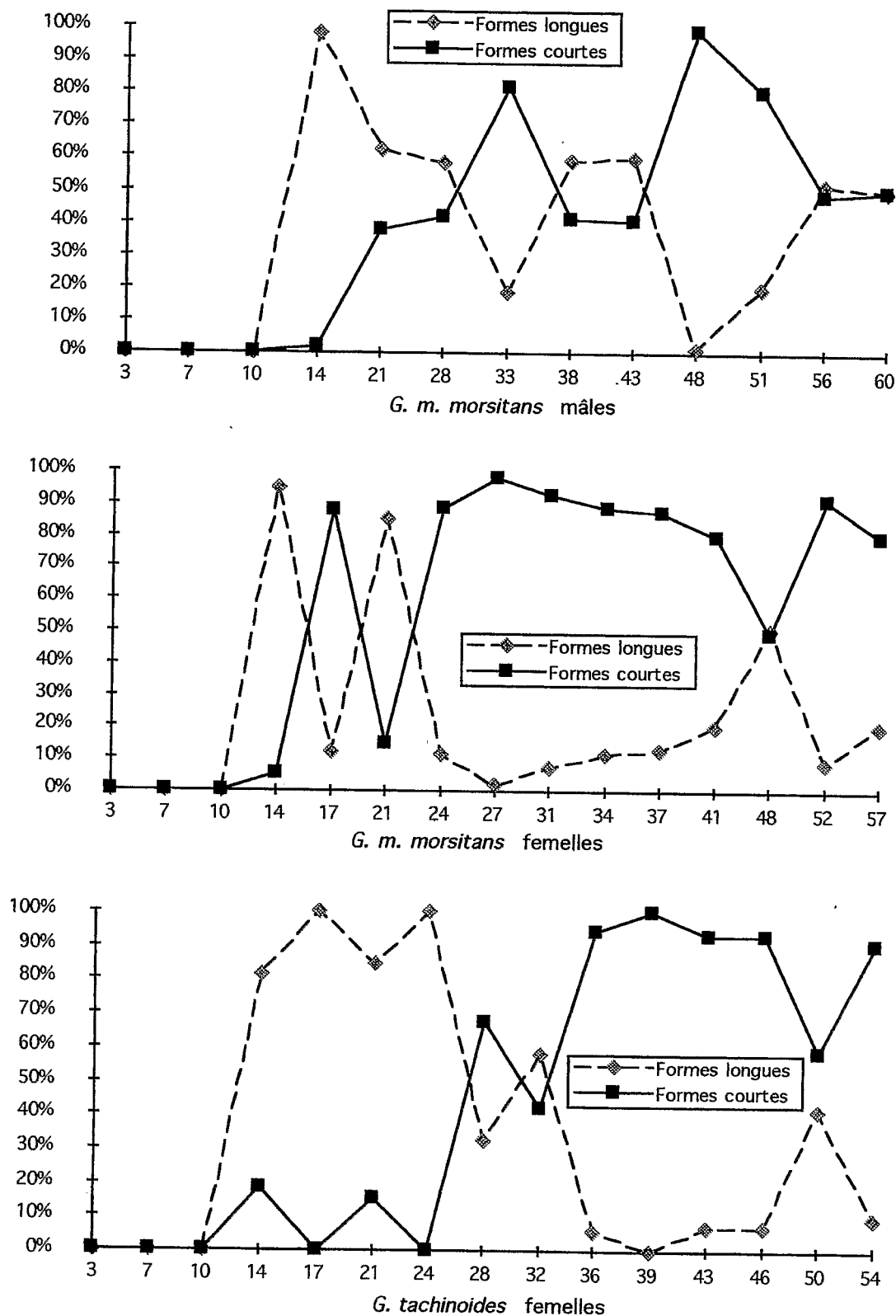


Figure 3 : évolution des pourcentages de formes longues et de formes courtes dans la salive des glossines à chaque essai pendant 60 jours d'observation.

tion), il n'en est pas de même dans la nature, où les mâles vivent beaucoup moins longtemps que les femelles (2, 23, 27) et constituent une menace de moins longue durée.

De plus, si chez les mâles et les femelles de *G. m. morsitans*, les pourcentages moyens de glossines porteuses d'infection dans le proboscis étaient identiques pendant la durée totale d'observation

confirmant une précédente étude (5), l'émission de trypanosomes à chaque essai concernait la moitié de l'effectif des mâles et les trois quarts de l'effectif des femelles, indiquant la plus grande capacité vectorielle des femelles.

Les glossines infectantes ne semblaient pas émettre de trypanosomes à chaque sondage, constat fait pendant les 60 jours d'obser-

vation (1 test tous les 3 jours), confirmant également les observations de Harley et Wilson (6). En outre, l'émission salivaire des trypanosomes était quantitativement très fluctuante d'un sondage à l'autre (0 à 500 trypanosomes), mais débutait le même jour (14<sup>e</sup>) chez les deux espèces (quel que soit le sexe).

Les nombres moyens de trypanosomes émis étaient proches de ceux observés par Mawuena et coll. (21) et Gidudu et coll. (5) avec le même couple parasite/vecteur.

Sachant qu'il suffit de peu de trypanosomes pour infecter un animal (6), les quantités éjectées étaient largement suffisantes pour transmettre la maladie au bétail.

Le dénombrement des formes courtes et longues des trypanosomes indique une différence entre sexes dans le processus de maturation qui est probablement due à divers facteurs intestinaux, dont les interactions lectines-carbohydrates, actuellement à l'étude (17, 18, 19, 20, 32). Les formes courtes étaient présentes dès le 14<sup>e</sup> jour et leur proportion s'accroissait rapidement en particulier chez *G. m. morsitans*.

Les trypanosomes présents dans la goutte anale étaient généralement morts. Leur présence à l'état vivant, remarquée en début d'infection chez certaines mouches, semblait être en rapport avec une non-maturation ultérieure chez l'individu qui en était émetteur. Ceci était peut-être dû à de très faibles niveaux de lectines ou leur absence, empêchant ainsi la destruction des trypanosomes mais supprimant aussi leur capacité à évoluer, puisque de petites quantités de lectines seraient aussi responsables du message de migration/maturation des trypanosomes qui passent par l'intestin (19, 31, 32, 33).

L'apparition des trypanosomes se faisait au même moment dans la goutte anale (3<sup>e</sup> jour) et dans la salive (14<sup>e</sup> jour) pour les deux espèces et les sexes. La cinétique d'émission apparaissait très voisine dans les deux liquides. La goutte anale offre donc l'opportunité, outre d'avoir un moyen complémentaire de détecter les glossines infectées à l'étage intestinal, d'améliorer nos connaissances sur les cycles évolutifs des trypanosomes chez le vecteur vivant grâce à cette observation dynamique.

Dans cette expérience, l'étude dans le temps d'un lot de glossines et non pas d'individus suivis isolément, ne permet pas de savoir dans quelle mesure les infections intestinales détectées ont évolué vers une maturation chez chaque glossine.

Cependant, la comparaison des pourcentages de salivats et de gouttes anales positifs par lot de glossines montre que si, chez les *G. m. morsitans* mâles, 12,3 p. 100 des gouttes anales sont positives, 21,3 p. 100 des salivats le sont, soit près du double, alors qu'il n'y a pas de différence de statut parasitologique entre ces deux liquides chez les *G. m. morsitans* femelles (20,0 et 24,5 p. 100 ;  $\Sigma = 1,94$ , N.S.) et chez *G. tachinoides* femelles (16,1 p. 100 et 12,5 p. 100 ;  $\Sigma = 1,04$ , N.S.). On note cependant une égale capacité de maturation des trypanosomes chez les mâles et les femelles de *G. m. morsitans*. Chez *G. tachinoides*, les niveaux d'infection et de maturation sont beaucoup plus bas, confirmant d'autres observations faites chez des glossines du groupe *palpalis* (5, 22).

Tous les individus ont été disséqués (9, 12) en fin d'expérience, indiquant que, chez *G. tachinoides*, la salivation sur lame révèle 3 fois moins d'infections qu'il n'y en avait après dissection du proboscis (résultats non publiés). Ceci est à mettre en rapport avec les observations faites sur les faibles réponses de piqûre et de salivation de *G. tachinoides* vis à vis de la goutte de PSG sur lame chauffée (4), confirmant la moindre propension des glossines du groupe *palpalis* à éjecter les trypanosomes, du moins *in vitro* (5).

Les résultats de la salivation sur lame et ceux de la dissection sont identiques pour les *G. m. morsitans* mâles et femelles, indiquant une bonne efficacité de la méthode de salivation pour cette sous-espèce. Ceci permet à la glossine de sonder spontanément sans contrainte imposée, ce qui est le cas de la salivation manuelle par pression sur le thorax (10). Cette glossine montrerait une aptitude supérieure, non seulement à permettre la maturation de *T. congolense*, mais aussi à l'émettre dans sa salive, confirmant son rôle de vecteur majeur de ce trypanosome (2, 6, 9).

Les limites principales de la salivation et de la dissection sont de ne pouvoir identifier avec certitude l'espèce (ou le type) de trypanosome, mais également les infections mixtes fréquentes dans la nature et les très faibles niveaux d'infection (25). Les outils moléculaires (*polymerase chain reaction*, sondes génomiques) permettent alors de compléter efficacement ces méthodes parasitologiques (14, 15, 16, 29).

## ■ CONCLUSION

La cinétique d'émission des trypanosomes intestinaux par examen de la goutte anale a été très peu étudiée auparavant. La technique de récupération de ce liquide d'excrétion s'est avérée facile à mettre en oeuvre et fiable.

Le recueil de la goutte anale et de la salive à partir des deux sites stratégiques de développement du parasite étudié (intestin moyen et proboscis) offre des possibilités d'investigation intéressantes. Elles peuvent être encore améliorées pour *G. tachinoides* en stimulant d'autres systèmes de perception des glossines.

*G. m. morsitans* confirme son rôle de vecteur très performant par son aptitude à s'infecter au niveau intestinal et à permettre une maturation forte, précoce et rapide de *T. congolense*.

Les relations préférentielles de certains couples vecteurs/parasites peuvent être abordées sur l'insecte vivant tout au long de sa vie par examen parasitologique des deux liquides émis par la glossine.

Ces méthodes simples, associées aux outils de la biologie moléculaire, offrent l'opportunité de mieux comprendre les processus complexes d'installation et de maturation des trypanosomes chez la glossine. Elles montrent ici la différence de compétence vectorielle de deux glossines, l'une appartenant au groupe *morsitans* (savanicole) et l'autre au groupe *palpalis* (ripicole).

## BIBLIOGRAPHIE

- BURSELL E., 1960. Loss of water by excretion and defaecation of the tsetse fly. *J. Exp. Biol.*, 3: 689-697.
- BUXTON P.A., 1955. The natural history of tsetse flies. An account of the biology of *Glossina* (Diptera). London, United Kingdom, Lewis H.K. and Co. Ltd., 816 p. (Mémoire No. 10)
- CLARKE J.E., 1966. Trypanosome infections in the mouth parts of *Glossina morsitans morsitans* Westw.: variation in frequency and extent of labral infections with age. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 60: 223-229.
- GIDUDU A.M., CUISANCE D., REIFENBERG J.M., FREZIL J.L., 1995. Amélioration de la technique de salivation des glossines pour la détection des métatrypanosomes infestants : étude de quelques facteurs biologiques et non biologiques sur le comportement de sondage des glossines. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 48: 153-160.
- GIDUDU A.M., CUISANCE D., REIFENBERG J.M., FREZIL J.L., 1995. Contribution à l'étude de l'émission de *Trypanosoma congolense* par *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae) au laboratoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 48: 264-270.



6. HARLEY J.M.B., WILSON A.J., 1968. Comparison between *Glossina morsitans*, *G. pallidipes* and *G. fuscipes* as vectors of trypanosomes of the *Trypanosoma congolense* group : the proportions infected experimentally and the numbers of infective organisms extruded during feeding. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **62**: 178-187.
7. HERBERT W.J., LUMSDEN W.H.R., 1976. *Trypanosoma brucei*. A rapid "matching" method for estimating the host's parasitaemia. *Exp. Parasitol.*, **40**: 427-431.
8. HOARE C.A., 1972. The trypanosomes of mammals. Blackwell Publications, Oxford-Edinburgh, United Kingdom, 749 p.
9. ITARD J., 1981. Les trypanosomoses animales africaines. In : Précis de Parasitologie vétérinaire tropicale, 717 p. Maisons-Alfort, France, IEMVT, Ministère de la Coopération et du Développement, p. 395-469.
10. KAZADI J.M., JOCHEMS M., KABORE H., MBENG C., VAN HEES J., KAGERUKA P., 1995. Standardisation et évaluation de la technique de salivation manuelle pour le dépistage des infections par trypanosomes chez la glossine (Diptera : Glossinidae). *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **48** : 171-175.
11. LAMBRECHT F.L., 1980. Ecological and physiological factors in the transmission of African trypanosomiasis. *Insect Sci. Appl.*, **1**: 47-54.
12. LLOYD L., JOHNSON W.B., 1924. The trypanosome infection in Northern Nigeria and a new method of estimation. *Bull. ent. Res.*, **14**: 265-288.
13. LUCAS J.M.S., 1955. Transmission of *Trypanosoma congolense* in cattle under field conditions in the absence of tsetse flies. *Vet. Rec.*, **67**: 405-408.
14. MCNAMARA J.J., LAVEISSIERE C., MASIGA D.K., 1995. Multiple trypanosome infections in wild tsetse in Côte d'Ivoire detected by PCR analysis and DNA probes. *Acta Trop.*, **59**: 85-92.
15. MAJIWA P.A.O., THATTHI R., MOLOO S.K., NYEKO J.H.P., OTIENO L. H., MALOO S., 1994. Detection of trypanosome infections in the saliva of tsetse flies and buffy-coat samples from antigenaemic but aparasitaemic cattle. *Parasitology*, **108**: 313-322.
16. MASIGA D. K., SMYTH A. J., HAYES P., BROMIDGE T. J., GIBSON W. C., 1992. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, **22**: 909-918.
17. MAUDLIN I., 1991. Transmission of African trypanosomiasis: Interactions among tsetse immune system, symbionts and parasites. In: Kerry F.H. Ed., *Advances in Disease Vector Research*. New York, USA, Springer Verlag, **7**: 117-148.
18. MAUDLIN I., WELBURN S.C., 1987. Lectin mediated establishment of midgut infections of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* in *Glossina morsitans*. *Trop. Med. Parasit.*, **38**: 167-70.
19. MAUDLIN I., WELBURN S.C., 1988. The role of lectins and trypanosome genotype in the maturation of midgut infections in *Glossina morsitans*. *Trop. Med. Parasit.*, **39**: 56-58.
20. MAUDLIN I., WELBURN S.C., 1994. Maturation of trypanosome infections in tsetse. *Exp. Parasitol.*, **79**: 202-205.
21. MAWUENA K., DOUMEY K., AKAKPO K., 1984. Nombre probable de *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* transmis par *Glossina morsitans*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **37** (n° spécial) : 186-191.
22. MOLOO S.K., KUTUZA S.B., 1988. Comparative study on the infection rates of different laboratory strains of *Glossina* species by *Trypanosoma congolense*. *Med. vet. Entomol.*, **2**: 253-257.
23. MULLIGAN H.W., 1970. The African trypanosomiasis. London, United Kingdom, George Allen and Unwin Ltd., 950 p.
24. OSIR E.O., IMBUGA M.O., ONYANGO P., 1993. Inhibition of *Glossina morsitans* midgut trypsin activity by D-glucosamine. *Parasitol. Res.*, **79**: 93-97.
25. OTIENO L.H., 1983. Inadequacy of the dissection method for estimating trypanosome infection rates. *Ann. trop. med. Parasit.*, **77**: 329-330.
26. REISEN W.K., 1989. Estimation of vectorial capacity; introduction. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, **14**: 39-40.
27. ROBERTS C.J., GRAY A.R., 1972. A comparison of *Glossina morsitans submorsitans* Newst. and *G. tachinoides* West., collected and maintained under similar conditions, as vectors of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*, *T. (N.) simiae* and *T. (Duttonella) vivax*. *Ann. trop. med. Parasit.*, **66**: 41-53.
28. RYAN L., KÜPPER W., CROFT S.L., MOLYNEUX D.H., CLAIR M., 1982. Differences in rates of acquisition of trypanosome infections between *Glossina* species in the field. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **62**: 291-300.
29. SOLANO P., ARGIRO L., REIFENBERG J.M., YAO YAO, DUVALLET G., 1995. Field application of the polymerase chain reaction (PCR) to the detection and characterization of trypanosomes in *Glossina longipalpis* (Diptera: Glossinidae) in Côte d'Ivoire. *Mol. Ecol.*, **4**: 781-785.
30. UILENBERG G., MAILLOT L., GIRET M., 1973. Etudes immunologiques sur les trypanosomoses. II - Observations nouvelles sur le type antigénique de base d'une souche de *Trypanosoma congolense*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **26** : 27-35.
31. WELBURN S.C., MAUDLIN I., 1989. Lectin signalling of *Trypanosoma congolense* infections in tsetse. *Med. vet. Entomol.*, **3**: 141-145.
32. WELBURN S.C., MAUDLIN I., ELLIS D.S., 1989. Rate of trypanosome killing by lectins in midguts of different species and strains of *Glossina*. *Med. vet. Entomol.*, **3**: 77-82.
33. WELBURN S.C., ARNOLD K., MAUDLIN I., GOODAY G.W., 1993. Rickettsia-like organisms and chitinase production in relation to transmission of trypanosomes by tse-tse flies. *Parasitology*, **107**: 141-145.
34. WELLS E.A., 1972. The importance of mechanical transmission in the epidemiology of Nagana: a review. *Trop. Anim. Health Prod.*, **4**: 74-88.

Reçu le 5.2.96, accepté le 26.8.96

### Summary

**Gidudu A.M., Cuisance D., Reifenberg J.M., Frézil J.L.**  
*Trypanosoma congolense* emission in *Glossina morsitans morsitans* and *Glossina tachinoides* (Diptera : Glossinidae) saliva and anal drop in the laboratory

The emission dynamics of *T. congolense* EATRO 325 (savannah type) is quantitatively and qualitatively followed by microscopic examination of saliva and anal drop collected every three days according to a method finalized with *G. morsitans* (males and females) and *G. tachinoides* (females). In these two tsetse flies, the appearance of trypanosomes takes place in the anal drop on day 3, and in saliva on day 14. During the observation period (60 days), the average percentage of flies with positive saliva is identical in males and females of *G. m. morsitans* (21.3 % and 24.5 %). It is much higher than that of *G. tachinoides* females (12.5 %). As they get older, the percentage of positive saliva tends to increase in females. From the first positive salivas (day 14), ejection of trypanosomes is greater in females than in males of *G. m. morsitans*. It also seems important in females of *G. tachinoides*. The average number of transmitted trypanosomes varies a lot (1 to 500) in each test. If the short metacyclical forms appear early (day 14), they become progressively dominant compared to long forms, but more rapidly in females than in males of *G. m. morsitans* and than in *G. tachinoides* females. Over a 60 day period, the average percentage of positive anal drops is not different from that of saliva in *G. m. morsitans* and *G. tachinoides* females, but lower in *G. m. morsitans* males. Still, both sexes of *G. m. morsitans* show the same maturation rate (trypanosomes in saliva). The emission curves in both liquids are very close. Examination of anal drops reveals important emission fluctuations (1 to 1000 trypanosomes). The association of the examination of both liquids gives the opportunity to monitor, in live insects, the settling in and maturing dynamics of trypanosomes with a cyclic evolution.

**Key words:** *Glossina morsitans morsitans* - *Glossina tachinoides* - *Trypanosoma congolense* - Saliva - Anal drop - Maturation - Vector.

### Resumen

**Gidudu A.M., Cuisance D., Reifenberg J.M., Frézil J.L.**  
Emisión de *Trypanosoma congolense* en la saliva y en la gota anal de la *Glossina morsitans morsitans* y la *Glossina tachinoides* (Diptera : Glossinidae) en el laboratorio

Se siguió cuantitativa y cualitativamente la dinámica de la emisión de *T. congolense* cepa EATRO 325 (tipo savannah), mediante el examen microscópico de la saliva y de la gota anal, recuperados cada tres días mediante el método utilizado con *G. m. morsitans* (machos y hembras) y *G. tachinoides* (hembras). En estas dos glosinas, la aparición de los tripanosomas se da a los tres días en la gota anal y a los 14 días en la saliva. El porcentaje promedio de glosinas con saliva positiva durante los días de observación (60 días) fue idéntico en los machos y en las hembras de *G. m. morsitans* (21,30 y 24,50 por ciento). Este es muy superior al de las *G. tachinoides* hembras (12,50 por ciento). Con la edad, el porcentaje de salivas positivas tiende a aumentar en las hembras. A partir de las primeras salivas positivas (14avo día), la evacuación de los tripanosomas es más intensa en las hembras que en los machos de *G. m. morsitans*. Es de igual importancia en las hembras de *G. tachinoides*. El número de promedio de tripanosomas emitidos fluctúa mucho (de 1 a 500) en cada ensayo. Si la aparición de estas formas cortas metacíclicas es precoz (14avo día), éstas se transforman progresivamente en dominantes con respecto a las formas largas, pero de forma más rápida en las hembras que en los machos de *G.m. morsitans* y que en las hembras de *G. tachinoides*. El porcentaje promedio de gotas anales positivas sobre 60 días no difiere del de las salivas para las hembras de *G. m. morsitans* y de *G. tachinoides*, pero es inferior para los machos de *G.m. morsitans*. Ambos sexos de *G. m. morsitans* manifiestan sin embargo la misma tasa de madurez (trypanosomas en la saliva). Las curvas de emisión en los dos líquidos son similares. El examen de la gota anal revela grandes fluctuaciones en la emisión (de 1 a 1000 tripanosomas). La asociación del examen de los dos líquidos ofrece la posibilidad de seguir la dinámica de la instalación y de la maduración de los tripanosomas de evolución cíclica en el insecto vivo.

**Palabras clave :** *Glossina morsitans morsitans* - *Glossina tachinoides* - *Trypanosoma congolense* - Saliva - Gota anal - Maduración - Vector.