

Marquage des Glossines au moyen de radio-isotopes

par D. CUISANCE et J. ITARD

RESUME

Quatre radio-isotopes injectés, par voie intraveineuse, au lapin utilisé comme animal hôte, ont été expérimentés pour le marquage des glossines, dans le but d'étudier, sur le terrain, la dynamique des populations.

Les radioéléments étudiés sont : le Chrome 51 , le Cobalt 57 , le Fer 59 et le Zinc 65 .

Les deux premiers corps ont une vitesse d'élimination trop rapide pour présenter un intérêt comme marqueur chez les glossines.

Le Fer 59 et le Zinc 65 présentent par contre des propriétés très intéressantes pour le marquage des glossines. Le repas radioactif doit être cependant pris par l'insecte avant la 4^e heure suivant l'injection au lapin pour le Fer 59 , avant la 3^e heure pour le Zinc 65 . Ces isotopes ne présentent, aux doses utilisées, aucune toxicité ni pour le donneur de sang, ni pour les insectes ayant absorbé ces radioéléments. Les glossines marquées sont détectables pendant plus de 5 semaines. Les femelles cèdent une partie de leur radioactivité à leurs descendants. Ceux-ci sont ainsi marqués et peuvent être détectés pendant une longue période.

I. INTRODUCTION

Des essais de marquage des glossines par radio-isotopes ont été effectués à la division de Biologie de l'établissement d'Ispra (Italie) du Centre Commun de Recherches Euratom, dans le but d'étudier sur le terrain la dynamique des populations de glossines, d'évaluer leur densité naturelle et de juger de l'efficacité de la lutte par lâchers en grandes quantités de mâles stériles.

Les insectes utilisés appartiennent à l'espèce *Glossina austeni* Newstead, provenant de l'élevage réalisé au laboratoire d'entomologie de l'I.E.M.V.T. à Maisons-Alfort.

II. CONDITIONS EXPERIMENTALES

Les glossines en élevage sont maintenues dans des cages de type Roubaud identiques à celles utilisées à Maisons-Alfort. Elles sont nourries chaque jour sur les oreilles de deux

lapins servant uniquement à l'alimentation des mouches normales.

Deux autres lapins sont utilisés pour nourrir les glossines marquées afin d'éviter une contamination éventuelle des lapins servant à la nourriture des mouches normales.

Pour le déroulement des expériences, on a constitué des lots de dix mouches maintenues, individuellement, dans une petite boîte de plastique, sans couvercle et à fond mobile, permettant de changer tous les jours le papier « Joseph » qui en garnit le fond, afin de recueillir les excréments. La boîte est recouverte d'un carré de tulle à mailles moyennement fines.

Pour mesurer la radioactivité, les glossines marquées sont placées, individuellement, dans un tube de comptage et immobilisées avec un peu de coton afin d'éviter les erreurs de géométrie. Le tube ne sert qu'une fois. Les excréments déposés sur le papier Joseph ont également été soumis au comptage.

Les lapins marqués sont maintenus à l'écart des autres lapins, dans des cages à métabolisme

auxquelles ont été adjointes une petite citerne destinée à recueillir les urines radioactives et un récipient métallique pour la récolte des excréments. Tous les deux jours 1 ml de sang des lapins marqués a été soumis au comptage.

Les comptages ont été effectués par des spectromètres γ , à savoir : un analyseur multi-canal R.C.L. 256 canaux et un analyseur multi-canal intertechnique 800 canaux.

Quatre radio-isotopes ont été expérimentés :

- le Chrome 51 (période = 27,8 jours);
- le Cobalt 57 (période = 267 jours);
- le Fer 59 (période = 44,5 jours);
- le Zinc 65 (période = 245 jours).

Les raisons ayant dicté ce choix sont les suivantes : les glossines étant strictement hématophages et ayant une longévité nettement supérieure à un mois (certaines femelles vivent plus de 200 jours), les radio-isotopes devaient avoir une période physique d'au moins 30 jours avec une période biologique aussi longue que possible; ils devaient être émetteur de rayons γ à grande énergie, afin d'en rendre la détection facile; ils ne devaient pas être toxiques pour le lapin donneur de sang et pour la glossine; ils devaient enfin présenter, si possible, des affinités pour les éléments sanguins.

Ces radio-isotopes, essentiellement émetteurs de rayons γ , utilisés en solution physiologique de chromate de sodium, cyanocobalamine, ascorbate et citrate de fer, gluconate de zinc, ont été injectés dans la veine marginale de l'oreille gauche du lapin, les glossines étant ensuite nourries sur son oreille droite, à des intervalles de temps variables.

III. RESULTATS

A. Chrome 51

La solution injectée au lapin correspond à une activité de 1 millicurie.

La période biologique du ^{51}Cr dans le sang des lapins est d'environ 5 à 6 jours. L'élimination est rapide, ce qui a été confirmé par les comptages effectués sur l'urine et les excréments. L'urine est fortement radioactive pendant les premiers jours qui suivent l'injection.

La période biologique du ^{51}Cr chez les glossines, mâles ou femelles, est de 2 à 3 jours.

Les femelles fécondées présentent une élimination identique à celle des mâles et des femelles vierges. Les pupes pondues ne sont pas radioactives. L'élimination du ^{51}Cr , par les excréments des glossines, croît très rapidement les deuxième et troisième jours, période correspondant à la perte maximale de l'isotope chez cet insecte. Sept jours après le marquage, il est pratiquement impossible de distinguer une glossine marquée d'une glossine témoin.

B. Cobalt 57

La solution injectée correspond à une activité de 10 microcuries.

Le lapin n'a présenté aucun trouble durant le mois qui a suivi l'injection. L'autopsie n'a révélé aucune lésion macroscopique.

La période biologique est, chez le lapin, inférieure à 24 heures. La disparition du cobalt, dans le sang, est très rapide.

La période biologique, chez les glossines, est de 36 heures en moyenne chez le mâle et de 3 à 4 jours chez la femelle. La durée de marquage est de 3 à 5 jours pour les mâles et 10 à 15 jours au maximum pour les femelles (durée du comptage : 1 minute par glossine). La décroissance biologique du ^{57}Co se traduit par une élévation rapide de la radioactivité des excréments, principalement entre le 3^e et le 7^e jour.

Une seule pupa a été pondue. Elle n'était pas radioactive.

C. Fer 59

L'étude de cet isotope a été effectuée en deux temps. Les solutions utilisées avaient respectivement des activités de 2,35 et 3 millicuries.

La courbe de radioactivité du sang du lapin montre une décroissance très rapide pendant les 5 premières heures. A partir de la 5^e heure, l'activité du sang croît et tend vers un pallier qui semble être atteint vers le 3^e/4^e jour; la courbe reste ensuite en plateau pendant un temps correspondant sensiblement à la durée de vie des hématies.

En effet, le fer injecté dans le sang ne persiste que peu de temps dans le plasma; cette disparition est due, soit à sa mise en réserve (foie, moelle osseuse, rate, reins), soit à son incorporation aux globules rouges, qui se réalise

au niveau des organes hématopoïétiques, la moelle osseuse notamment.

Jusqu'à la 5^e heure, le fer n'est pas encore fixé sur les hématies, ou très peu; son taux plasmatique baisse; à partir de la 5^e heure la quantité d'hématies marquées croît régulièrement d'heure en heure, la radioactivité du sang devenant maximale vers le 4^e jour.

Des lots de glossines nourries 20 minutes, 1 heure et 2 heures après l'injection au lapin montrent des décroissances très voisines les unes des autres.

Après une chute brutale des taux de comptage les trois premiers jours environ, aussi bien pour les mâles que pour les femelles, la courbe de radioactivité présente ensuite un plateau parfait, faiblement incliné. A cette décroissance brutale correspond une élévation des taux de comptage des excréments.

Par contre, des lots de glossines nourries 12 heures, 24 heures, 3 jours et 10 jours après l'injection radioactive au lapin présentent une décroissance très brutale qui amène leurs taux de comptage à un niveau très bas, ce dernier étant atteint entre le 3^e et le 6^e jour; la courbe se présente ensuite en plateau.

Donc, mâles et femelles se comportent de la même façon dans tous les lots, bien que les taux de comptage des femelles soient supérieurs à ceux des mâles, mais les glossines des lots marqués avant la 2^e heure et ceux marqués après la 12^e heure présentent une courbe de décroissance qui atteint un plateau situé à des niveaux de radioactivité très différents: pour les premiers il reste élevé, pour les seconds il demeure très bas.

Il semble donc que les glossines assimilent et fixent bien le fer tant qu'il n'est pas encore incorporé aux hématies. Les glossines ne se marquent plus dans le lot nourri 12 heures après l'injection au lapin, or la décroissance de la radioactivité du sang contrôlée chaque heure pendant les 16 premières heures montre que le fer réapparaît fixé à partir de la 5^e heure. Le marquage restant bon pour le lot nourri à la 2^e heure, il est permis de penser que la glossine ne peut utiliser le fer complexé sur l'hématie au niveau de l'hème de l'hémoglobine; par contre elle l'assimile et par conséquent se marque lorsqu'il vient d'être injecté dans le courant sanguin; à ce moment, le fer peut, soit rester

à l'état libre, soit plutôt se lier à une globuline spécifique, la *sidérophiline* ou *transferrine*, qui en assure le transport et joue un rôle protecteur vis-à-vis de l'effet toxique du fer libre circulant.

Suivant que le fer, au moment du repas de l'insecte, est fixé sur cette molécule ou sur l'autre, l'utilisation en est différente, ce qui s'explique peut-être par le fait que les deux composés ainsi formés sont l'un héminique, l'autre non héminique, cette distinction se faisant sur la présence ou l'absence d'une porphyrine fixant le fer.

Chez des glossines femelles nourries 30 minutes après l'injection radioactive au lapin et fécondées 48 heures avant le marquage, les comptages qui ont été régulièrement effectués chez les femelles et les pupes pendant plus de 50 jours, montrent que le ⁵⁹Fe passe de la femelle aux pupes. La courbe de décroissance radioactive prend l'aspect d'un graphique en escalier, chaque marche correspondant à la ponte d'une puce, qui fait chuter d'autant la radioactivité de la femelle dont elle est issue. Entre les pontes, la radioactivité de la femelle reste sur un palier à faible pente.

Le rapport du taux de comptage de la puce à celui de la femelle au jour de la ponte décroît avec le rang de ponte; cette décroissance est plus rapide qu'avec le ⁶⁵Zn. Il n'y a pas, d'autre part, de différence significative entre les quantités de radioactivité cédée par les femelles aux pupes de 1^{er} rang, que la femelle ait été marquée avant ou après la première ovulation. Le passage du ⁵⁹Fe de la mère à la puce ne se réalise pas au niveau de l'ovariole. Il a vraisemblablement lieu au niveau de l'utérus, probablement par l'intermédiaire de la glande utérine.

Les comptages effectués, à l'éclosion des pupes marquées, séparément sur l'adulte et le puparium ont montré que la quasi-totalité de la radioactivité se retrouve chez l'adulte; le puparium n'est que très faiblement radioactif. Le rapport de l'activité du puparium à celle de l'adulte ne varie pas avec le rang de ponte ni avec le sexe, mais sa valeur est plus de 10 fois inférieure à celle du ⁶⁵Zn.

Les adultes, nés de pupes pondues marquées, ont été régulièrement comptés afin de suivre la décroissance de leur radioactivité; cette dernière est différente de celle de leurs parents. Mâles et femelles présentent une courbe descen-

dant en pente douce d'une façon régulière, entrecoupée chez les femelles de chutes lors de la ponte, mais il n'y a pas la baisse brutale de radioactivité observée pendant les 3-4 premiers jours chez leurs parents. Ceci entraîne des périodes effectives très différentes, qui peuvent être estimées supérieures à 25 jours chez les mâles.

Les femelles obtenues ont été fécondées et leurs pupes recueillies et comptées. Le rapport du taux de comptage de la pupa à celui de la femelle montre une décroissance semblable avec le rang de ponte, mais sa valeur de départ au niveau des pupes de premier rang est très faible : dans la génération suivante, la femelle cède à sa pupa de 1^{er} rang moins de ^{59}Fe que sa mère n'en cédait.

Donc, injecté par voie intraveineuse, le ^{59}Fe marque fortement le sang du lapin; aussi la quantité de radioactivité puisée par la glossine est-elle notable, mais cette radioactivité ne se maintient chez l'insecte que si le repas est pris dans un laps de temps que l'on peut évaluer à 4-5 heures après l'injection; l'insecte reste alors bien marqué pendant une durée de 5 semaines au moins. Cette limite de 4-5 heures dépassée, le marquage ne reste appréciable que très peu de temps, 3 à 4 jours au plus, chez les glossines. Dans le premier cas, le marquage persistant permet, malgré la période physique du ^{59}Fe (44,5 jours) relativement courte et le taux faible de transmission du fer aux pupes, de suivre les adultes, nés des pupes de premier rang pondues par les femelles marquées.

La détection à l'aide d'un appareil portatif muni d'une sonde à cristal détectant particulièrement les rayons γ à haute énergie (Ludlum Model 16 Analyseur) s'est révélée aisée dans les conditions suivantes, la glossine étant appliquée contre le cristal de la sonde :

- au-dessus de 6.000 - 7.000 c.p.m. enregistrés au spectromètre gamma, la détection est aisée sans protection contre les rayonnements ambiants avec un château de plomb (échelle X 10);
- entre 1.500 et 6.000 c.p.m., l'usage du château de plomb est nécessaire; la distinction entre une glossine non marquée et une glossine marquée est alors aisée (échelle X 1);
- en dessous de 1.000 - 1.500 c.p.m., toute distinction devient hasardeuse.

D. Zinc 65

La solution avait, au moment de l'injection, une activité de 3 millicuries.

La persistance de la radioactivité dans le sang du lapin est très faible et, dès la 6^e heure, on retrouve à peine le 1/4 de la radioactivité du temps $T_0 + 55$ min. C'est-à-dire que la période biologique du ^{65}Zn dans le sang du lapin est très courte (inférieure à 3 heures).

Par conséquent un lapin marqué au ^{65}Zn ne permet un marquage quantitativement suffisant des glossines que pendant quelques heures.

Dans le temps, le sang garde vis-à-vis des glossines des qualités de marqueurs identiques à quantité de radioactivité égale. Ceci se traduit sur les graphiques par une similitude des courbes de décroissance de la radioactivité chez les glossines.

La courbe peut se décomposer sommairement en deux droites : l'une à pente forte pour les mâles pendant les 4 premiers jours, à pente moins forte pendant les 6 premiers jours pour les femelles, l'autre à pente moyenne pour les deux sexes.

Cette décroissance de la radioactivité dans le corps de l'insecte se traduit par une augmentation concomitante de la radioactivité des excréments; les courbes correspondant aux excréments ont toutes la même allure, traduisant en la confirmant, une élimination semblable du radio-zinc dans les lots de glossines marquées à des espaces de temps variables.

Le lapin a très bien supporté l'injection de 3 mCi de gluconate de ^{65}Zn et n'a manifesté aucun symptôme d'intolérance. Son appétit et son état d'engraissement n'ont nullement été affectés malgré la quantité de radioactivité injectée relativement élevée. Cet isotope qui a tendance à s'accumuler dans les os, les dents, les poils, est impliqué dans la synthèse de nombreux enzymes; ceci explique qu'il disparaît vite du courant sanguin pour aller se fixer avec ténacité dans le corps de l'animal; son élimination urinaire est faible, l'excrétion se faisant par les fèces via le suc pancréatique.

Des Glossines femelles fécondées ont été régulièrement soumises au comptage, ainsi que leurs pupes, pendant plus de 70 jours.

La femelle cède une partie de sa radioactivité à chaque larve; la chute de radioactivité ainsi

provoquée chez la femelle se traduit par une courbe en escalier; entre ces chutes la courbe prend l'aspect d'un plateau à pente très faible. La courbe de radioactivité des excréments montre une élimination surtout importante les 4 premiers jours.

Le taux de radioactivité de la pupe à celui de la femelle pondreuse s'exprime dans un rapport qui va en décroissant avec le rang de ponte.

Au cours de sa vie la femelle marquée cède une partie de plus en plus réduite de sa radioactivité. Ce rapport va de 0,813 pour le maximum enregistré chez les pupes de 1^{er} rang à 0,128 pour le minimum enregistré chez les pupes de 9^e rang obtenues à la fin de l'observation.

Il n'y a pas de différences dans la radioactivité des pupes, que les femelles aient été marquées avant ou après l'ovulation. La radioactivité, cédée aux larves dans le corps de la femelle, provient vraisemblablement de l'utérus où la larve reste 6 jours environ pour atteindre le stade III.

Toutes les femelles fécondées et ainsi marquées ont montré une ponte régulière, et aucune mortalité n'a été enregistrée.

Des pupes ainsi obtenues ont éclos des glossines mâles et femelles; dès l'éclosion de l'adulte, ce dernier et son puparium ont été soumis au comptage. Le rapport de la radioactivité du puparium à celle de l'adulte ne varie pas en fonction du rang de ponte. Le puparium et la larve III se partagent dans le temps toujours le même pourcentage de radiozinc. Il ne semble pas y avoir de différence suivant le sexe de l'adulte.

Il faut noter enfin que ce rapport est relativement élevé comparativement aux rapports obtenus avec le ⁵⁹Fe.

Chez les adultes nés de ces pupes, les courbes de décroissance permettent de constater que l'élimination de la radioactivité n'est pas identique à celle de leurs parents : pour les mâles, la décroissance est progressive et régulière depuis la naissance sans chute brutale les 4 premiers jours; il en est de même pour les femelles dont la courbe se transforme ensuite en paliers successifs avec la ponte; chez les mâles, la période effective est de 18-19 jours, et elle serait encore bien plus longue chez les

femelles en l'absence de ponte; les périodes effectives sont donc nettement différentes de celles de leurs parents.

Les adultes de première génération ont eu une vitalité normale et les femelles fécondées ont pondu régulièrement.

Le rapport du taux de comptage des pupes à celui des femelles pondreuses montre la même décroissance que chez les parents avec le rang de ponte. Les valeurs maximales de ce rapport sont toutefois bien plus faibles que chez les pupes de même rang pondues par leurs parents.

En conclusion, le ⁶⁵Zn s'il se fixe activement dans l'organisme du lapin, n'a qu'un très faible tropisme pour le sang; sa présence en quantité utile pour un marquage reste de très courte durée.

La fixation dans le corps de l'insecte demeure intéressante puisqu'elle permet, lorsque ce dernier a pris un repas radioactif quantitativement suffisant, de le détecter pendant un temps assez long. Cette détection a été réalisée avec précision au spectromètre gamma, mais elle s'est révélée relativement aisée avec un analyseur portatif, dans les mêmes conditions que pour le ⁵⁹Fe.

IV. CONCLUSIONS

Des quatre radioéléments utilisés, le ⁵⁹Fe et le ⁶⁵Zn semblent être les plus intéressants pour le marquage des glossines. Ces isotopes sont bien supportés aux doses utilisées par le lapin donneur de sang, chez lequel ils persistent assez longtemps pour envisager diverses études de population sur le terrain. La décroissance biologique de ces deux isotopes est suffisamment lente pour accorder aux glossines un marquage de durée intéressante. Sur les adultes ainsi marqués, aucune radiotoxicité entraînant une mortalité ne s'est manifestée. Il reste, cependant, à déterminer les doses limites de radioactivité tolérable pour la glossine; car si la radiotoxicité ne se manifeste pas par une mortalité, elle serait, toutefois, susceptible de perturber le fonctionnement ovarien des glossines femelles (cas du ⁵⁹Fe à la dose de 2,35 mCi chez le lapin).

La détection est rendue possible pendant 4-5 semaines chez les mâles et plus longtemps chez les femelles, si le ⁶⁵Zn se trouve en quantité suffisante dans le sang du lapin, si le ⁵⁹Fe

se présente sous une forme métabolisable par la glossine.

La comparaison des qualités de marqueur des deux isotopes nous font, cependant, retenir le ^{59}Fe pour les raisons suivantes :

Le sang du lapin reste un bon marqueur pendant une durée de 4 heures environ après l'injection; la même durée ne permet qu'un marquage médiocre avec le ^{65}Zn .

Si le ^{65}Zn se transmet plus largement de la femelle aux pupes et si sa longue période physique permet d'envisager l'étude de la descendance des glossines, les faibles quantités d'isotope, absorbées par celles-ci au cours du repas de sang, assombrissent les espoirs permis; cette période physique plus longue devient alors un inconvénient lors de contaminations accidentelles ou lors d'introduction, par lâcher en grandes quantités, d'insectes marqués par ce radio-isotope, dans une chaîne biologique.

Le ^{51}Cr et le ^{57}Co ont une vitesse d'élimination trop rapide pour présenter un intérêt comme marqueur chez les glossines.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos plus vifs remerciements à la Commission des Communautés Européennes et plus particulièrement à la Division de biologie (Direction : Ph. BOURDEAU) de l'établissement d'Ispra du Centre Commun de Recherches Euratom, dans les laboratoires duquel ont été effectués ces travaux. Nous exprimons toute notre gratitude et notre reconnaissance à Monsieur R. CAVALLORO, Chef du Secteur d'Entomologie d'Ispra, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et à Messieurs MYTTENAERE et LEPERS qui nous ont largement fait profiter de leur expérience.

LEGENDE DES FIGURES

Graphique I

Courbes de décroissance radioactive chez *G. austeni* vierges (5 ♂ et 5 ♀ par lot) nourries sur lapin marqué au ^{65}Zn , aux temps suivants après l'injection :

- Lot A = 20 minutes
- Lot B = 6 heures
- Lot C = 12 heures
- Lot D = 24 heures
- Lot E = 6 jours.

Graphique II

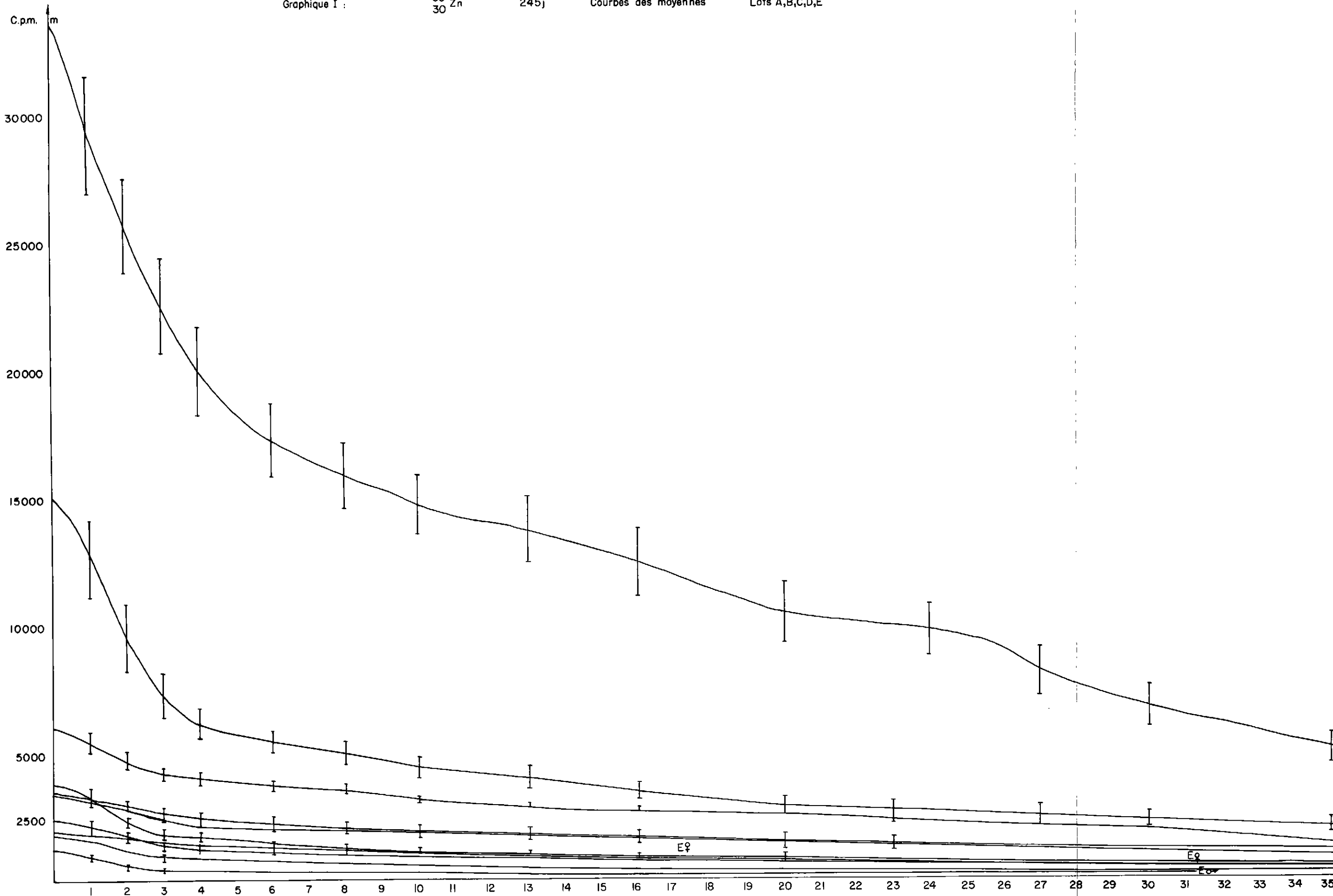
Courbes de décroissance radioactive chez des femelles fécondées de *G. austeni* nourries sur lapin marqué au ^{65}Zn , aux âges suivants :

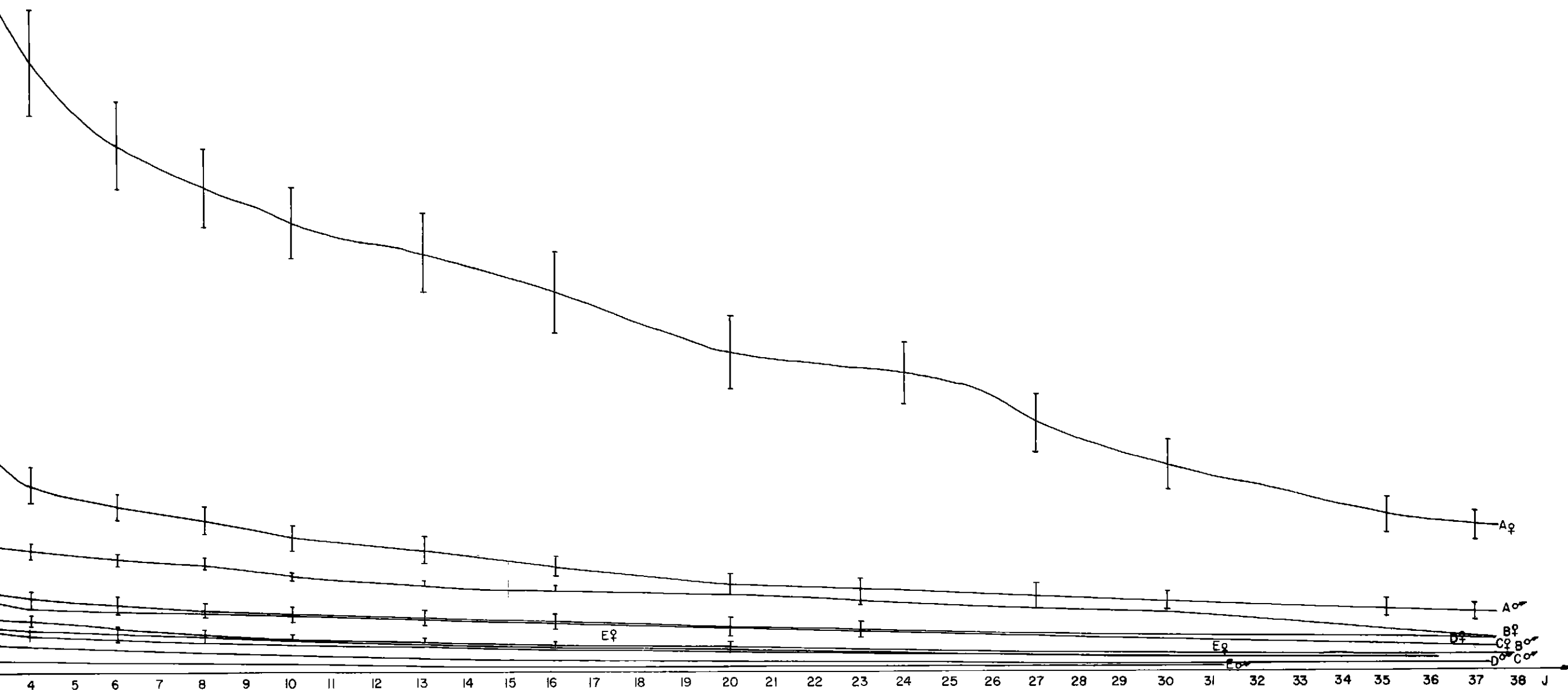
- Femelles n° 1 à 5 = 3 jours
 - Femelles n° 6 à 10 = 12-15 jours
- (les flèches indiquent la ponte d'une larve).

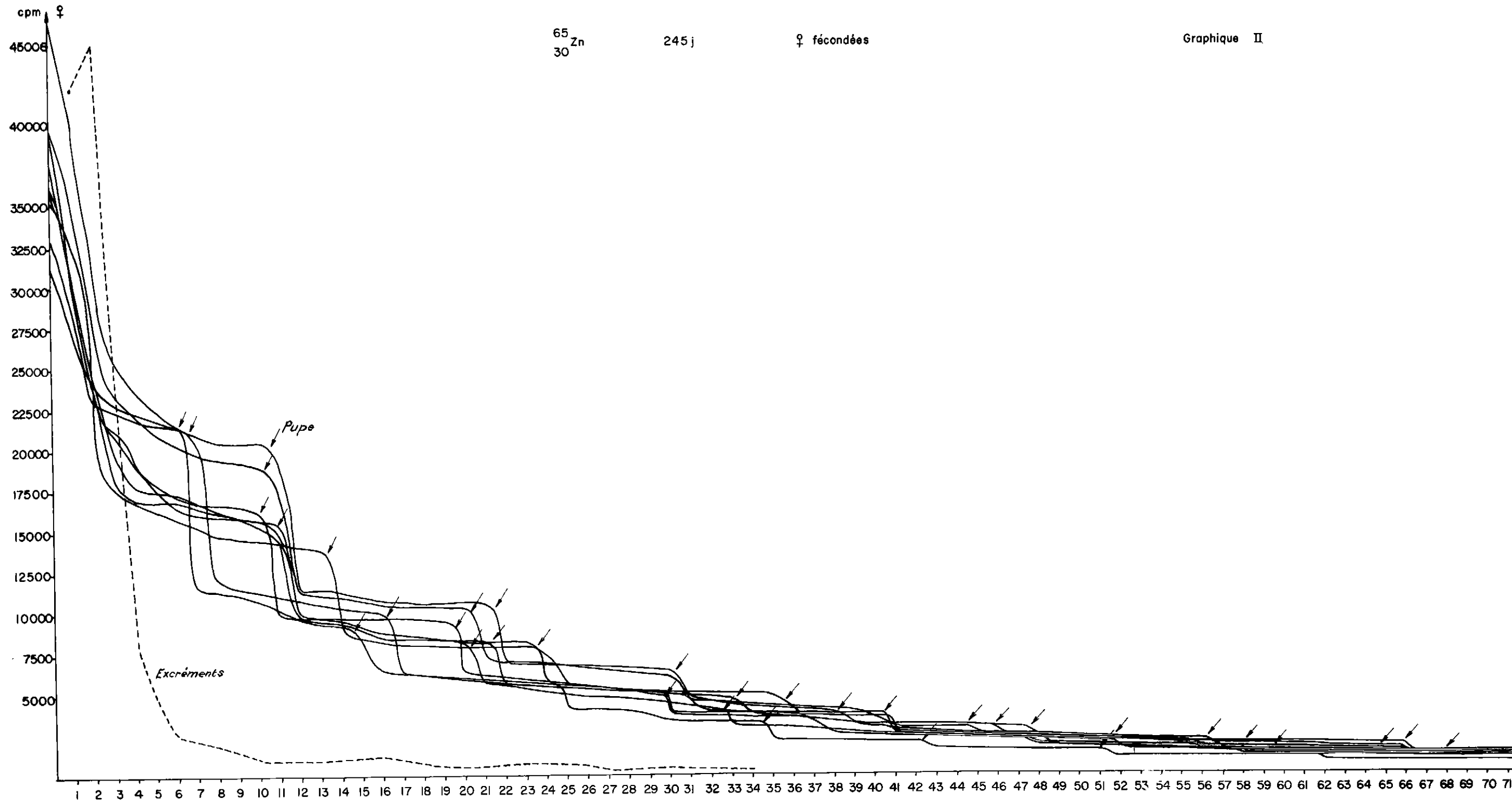
Graphique III

Courbes de décroissance radioactive chez les descendants de femelles de *G. austeni* marquées au ^{65}Zn :

- n° 1, 4, 6, 8 = mâles
 - n° 2, 3 = femelles
- (les flèches indiquent la ponte d'une larve).





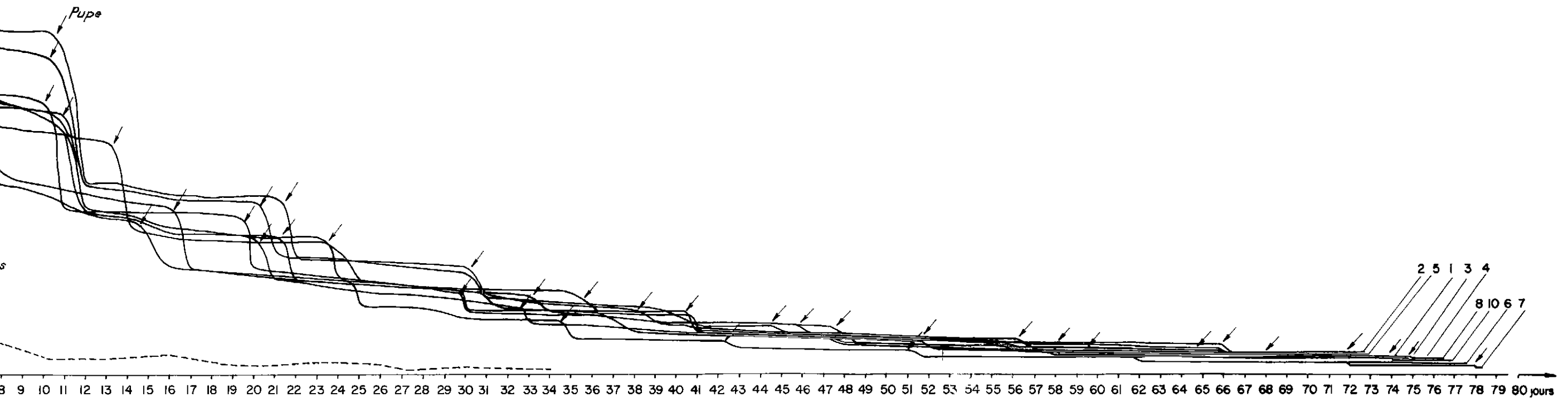


$^{65}_{30}\text{Zn}$

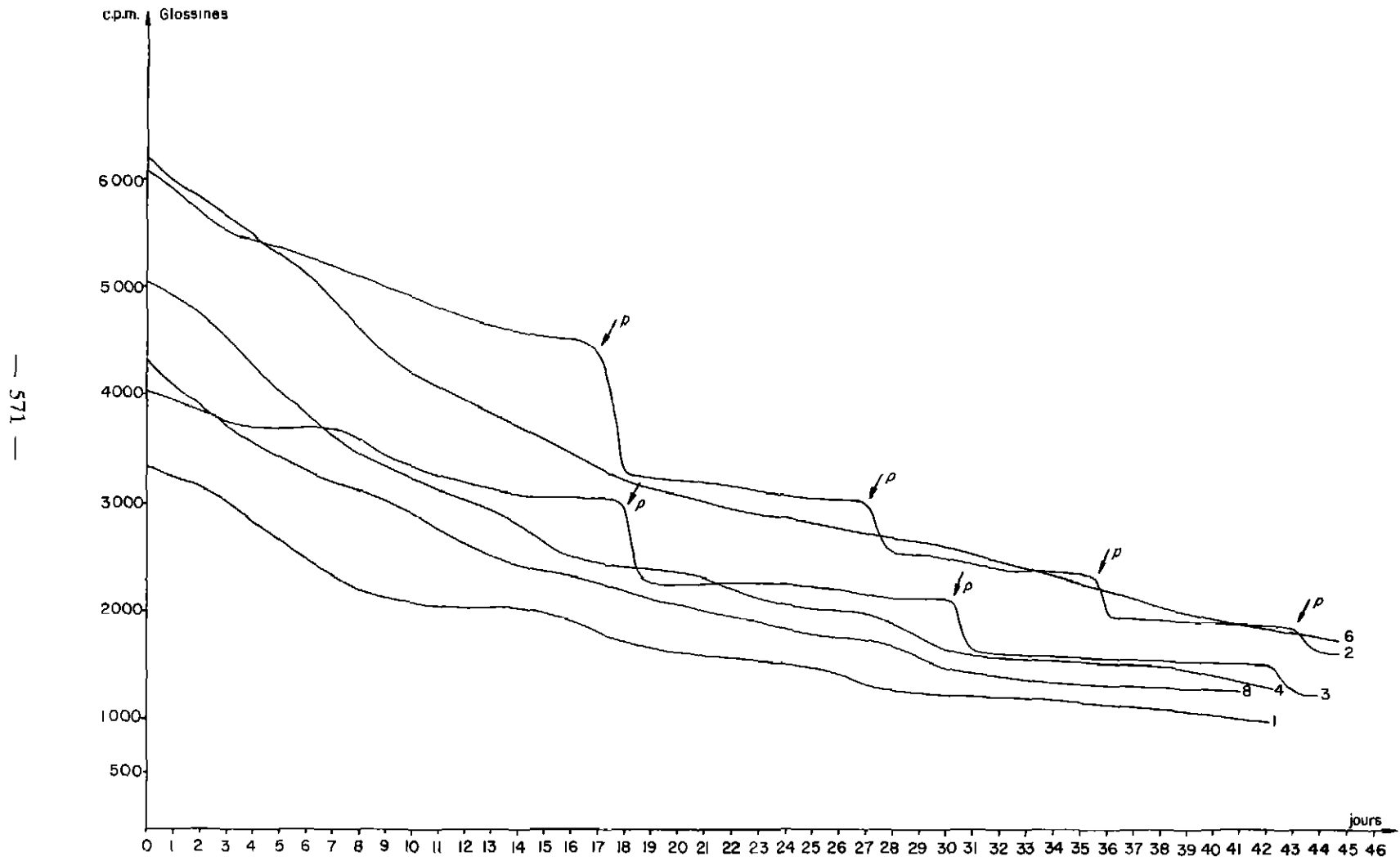
245 j

♀ fécondées

Graphique II



Graphique III

Zu $\frac{65}{30}$ Adultes nés des pupes de 1^{er} rang pondues par des ♀ marqués

Graphique IV

Courbes de décroissance radioactive chez *G. austeni* vierges (5 ♂ et 5 ♀ par lot) nourries sur lapin marqué au ^{59}Fe , aux temps suivants après l'injection :

Lot A = 20 minutes

Lot B = 1 heure

Lot C = 2 heures

Lot D = 12 heures

Lot E = 24 heures

Lot F = 3 jours

Lot G = 10 jours.

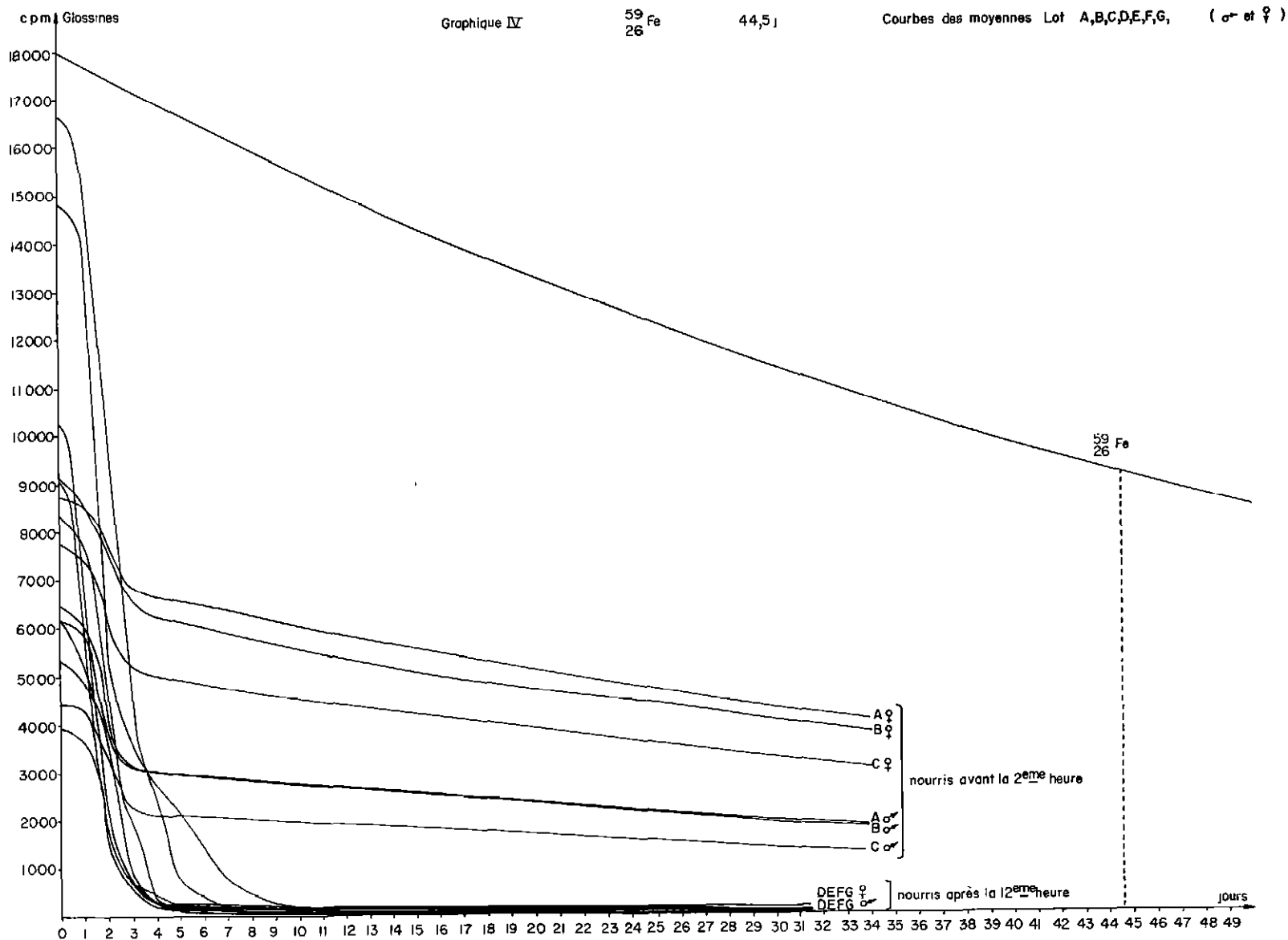
Graphique V

Courbes de décroissance radioactive chez des femelles fécondées de *G. austeni*, nourries sur lapin marqué au ^{59}Fe , aux âges suivants :

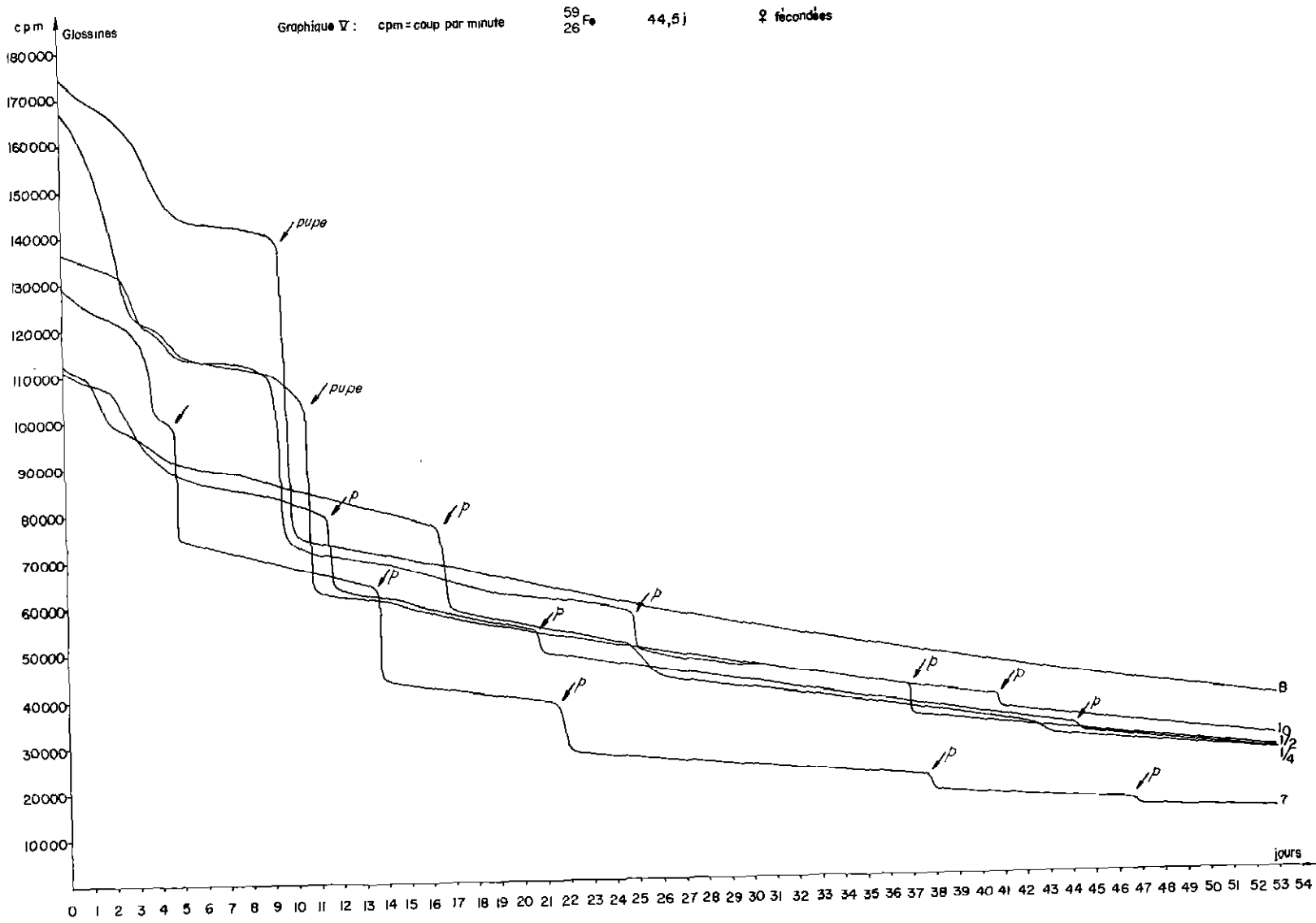
Femelles n° 1, 2, 1/4 = 4 à 7 jours

Femelles n° 7, B, 10 = 13 jours

(les flèches indiquent la ponte d'une larve).



— 574 —



SUMMARY

Labelling of tsetse flies by radioisotopes

Four radioisotopes injected intravenously into the rabbit used as host animal were tested to mark tsetse flies in order to study, in the field, the population dynamics.

The radioelements are the following: Chromium ⁵¹, Cobalt ⁵⁷, Iron ⁵⁹ and Zinc ⁶⁵.

The two first elements are too rapidly eliminated to be used as markers of tsetse flies.

On the other hand, Iron ⁵⁹ and Zinc ⁶⁵ have very interesting qualities for labelling Glossinae. Nevertheless, it is necessary that the insect takes the radio-active feed before the fourth hour after the injection of the rabbit with Iron ⁵⁹, before the third hour with Zinc ⁶⁵. At the doses used, these isotopes are not toxic either for the blood donor, or for insects fed with these radioelements. It is possible to detect marked Glossinae for over five weeks. The females pass on a part of their radioactivity to their progeny that, thus marked, can be detected for a long time.

RESUMEN

Marca de las glosinas mediante radio-isótopos

Se experimentaron para marcar las glosinas cuatro radio-isótopos inyectados, por vía intravenosa, al conejo utilizado como animal huésped, con el fin de estudiar, sobre terreno, la dinámica de las poblaciones.

Los radio-elementos estudiados son: el cromo ⁵¹, el cobalto ⁵⁷, el hierro ⁵⁹ y el cinc ⁶⁵.

Los dos primeros cuerpos tienen una velocidad de eliminación demasiado rápida para presentar un interés como marcador en las glosinas.

En cambio, el hierro ⁵⁹ y el cinc ⁶⁵ tienen propiedades muy interesantes para la marca de las glosinas.

El insecto tiene que tomar su comida radioactiva antes de la cuarta hora siguiendo la inyección al conejo en cuanto al hierro ⁵⁹, antes de la tercera hora en cuanto al cinc ⁶⁵. En las dosis utilizadas, estos isótopos no presentan ninguna toxicidad para el dador de sangre, ni para los insectos habiendo absorbido dichos radio-elementos. Se pueden detectar las glosinas durante más de 5 semanas.

Las hembras transmiten un parte de su radioactividad a sus descendientes. Estos así son marcados y se puede detectarlos durante un largo periodo.

BIBLIOGRAPHIE

- AZEVEDO (J. Fraga de), CARVAO GOMES (F. A.), PINHAO (R.), Biological studies carried out with *Glossina morsitans* colony of Lisbon IV. Utilisation of the ³²P and the ⁶⁰Co in the study of biology of the *Glossina morsitans*. *An. Esc. nac. Saude publ. Med. trop.*, 1968, 2: 61-67.
- BESSIS (M.), Le cycle du fer vu au microscope électronique à l'état normal et dans certaines anémies, *Revue Praticien*, 1959, 9: 14.
- BREYMEYER (A.), ODUM (E. P.), Transfer and bioelimination of tracer ⁶⁵Zn during predation by spiders on labelled flies, Symposium on Radioecology - Proceeding of the Second National Symposium Ann. Arbor, Michigan, 1967.
- COMAR (C. L.), BRONNER (F.), Mineral metabolism and advanced treatise, New York and London, Academic Press, 1962, 2: 463-82.
- DE HEVESY (G.), Le métabolisme du fer plasmatic et son importance clinique, Stockholm, Suède, Institut de Chimie organique et de Biochimie de l'Université Royale, 1963.
- GORDON (F. BENNETT), Use of ³²P in the study of a population of *Simulium rugglesi* (Diptera: Simuliidae) in Algonquin Park, Ontario, *Canadian J. Zoology*, 1963, 41.
- GRAHAM (E. R.), TELLE (P.), Zinc retention in Rabbits: Effect of previous diet, *Science*, 1967, 155 (3.763): 691-92.
- HOHN (T.), HOBBS (M. E.), Total blood volume. Its measurement and significance. One of a series of monographs discussing the clinical applications of radioisotopes, Amersham (England), The Radiochemical Center.
- Measurement techniques for the clinical application of radioisotopes. One of a series of monographs discussing the clinical applications of radioisotopes, Amersham (England), The Radiochemical Center.
- MOLLIN (D. L.), WATTERS (A. H.), The study of vitamin B₁₂ absorption using labelled cobalamins. One of a series of monographs discussing the clinical applications of radioisotopes, Amersham (England), The Radiochemical Center.
- NAJEAN (Y.), BOIRON (M.), Renseignements fournis par les techniques actuelles d'exploration isotopiques au cours des anémies, *Rev. Praticien*, 1959, 9 (14).
- PARISI (A. F.), VALLEE (B. L.), BOSTON, MASS, Zinc metalloenzymes: characteristics and significance in biology and medicine, *Ann. J. Clin. Nutr.*, 1969, 22 (9): 1.222-39.

PRASAD (A. S.), A century of research on the metabolic role of zinc, *Ann. J. Clin. Nutr.*, 1969, **22** (9) : 1.215-21.

REINHOLD (J. G.), KFOURY (G. A.), Zinc-dependent enzymes in Inc-depleted rats; Intestinal alkaline phosphatase, *Ann. J. Clin. Nutr.*, 1969, **22** (9) : 1.250-63.

SCAIFE (J. F.), VITTORIO (P.V.), The use of chromium 51 as a sensitive quantitative criterion of early radiation damage to rat thymocytes, *Canadian J. Biochem.*, 1964, **42** : 503.

UNDERWOOD (E. J.), Trace elements in human and animal nutrition, New York, London, Academic Press, 1956, pp. 224-32.