

Contribution à l'étude de l'émission de *Trypanosoma congolense* par *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae) au laboratoire

A.M. Gidudu¹, D. Cuisance², J.M. Reifenberg², J.L. Frézil³

GIDUDU (A.M.), CUISANCE (D.), REIFENBERG (J.M.), FRÉZIL (J.L.). Contribution à l'étude de l'émission de *Trypanosoma congolense* par *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae) au laboratoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1995, 48 (3) : 264-270.

Le processus d'émission des trypanosomes est étudié chez *Glossina morsitans morsitans* expérimentalement infectée par *Trypanosoma congolense* EATRO 325 (type savannah). La technique utilisée est la salivation provoquée sur lame chauffée (38 °C) pendant 5 minutes. L'influence de divers supports (PSG, sang, PSG + ATP) est évaluée. Quel que soit le sexe, les pourcentages d'infections décelés par cette technique ne diffèrent pas significativement selon l'utilisation de PSG ou de sang. La détection des parasites par examen microscopique du salivat montre que 75 à 100 p. 100 des mâles émettent des trypanosomes au cours des sondages successifs, alors que 30 à 100 p. 100 des femelles sont détectées positives selon le même protocole. Le nombre de trypanosomes émis par individu varie fortement au cours du temps avec une moyenne de 48,4 (dont 32,5 métatrypanosomes infectants) pour les mâles et de 19,3 (dont 12,2 métatrypanosomes infectants) pour les femelles avec une proportion croissante des formes courtes. L'adjonction d'ATP n'affecte pas la proportion de glossines trouvées positives, mais semble favoriser l'éjection des trypanosomes, notamment des formes infectantes. Ces résultats sont discutés par rapport aux relations vecteurs-parasites et à la compétence vectorielle de *G. morsitans morsitans* vis-à-vis d'un parasite appartenant au sous-genre *Nannomonas*.

Mots-clés : *Trypanosoma congolense* - Trypanosomose - *Glossina* - Maladie transmise par vecteur - Salive.

INTRODUCTION

En zone subhumide et humide d'Afrique, l'épidémiologie des trypanosomoses humaines et animales est étroitement associée aux glossines avec cependant une grande variation du risque trypanosomien. Celui-ci est en particulier tributaire de la « capacité vectorielle » qui est liée à la fois à des facteurs extrinsèques (le milieu) mais surtout à des facteurs intrinsèques dépendants de la glossine. Ces derniers déterminent sa « compétence vectorielle », c'est-à-dire l'aptitude de l'insecte vecteur à s'infecter, à permettre la maturation des trypanosomes et à les transmettre à l'hôte mammifère (19). Dans des foyers de maladie, la connaissance du statut infectant du vecteur est d'un grand intérêt. Chez les glossines, il se traduit par l'émission de trypanosomes infectants au moment de la piqûre, du fait de la présence de ces formes dans le salivat transitant par l'hypopharynx (transmission cyclique)

ou dans les parties distales souillées du proboscis (transmission mécanique).

Tant en situation enzootique qu'épizootique, il est important de connaître la circulation du parasite à un instant donné chez les vecteurs, ce qui nécessite sur le terrain la dissection des glossines (tube digestif, glandes salivaires, proboscis), technique très incertaine pour caractériser les trypanosomes. Au laboratoire, l'utilisation de sourceaux permet de connaître l'infectivité d'une glossine (17) mais cette méthode est longue et impraticable sur le terrain.

La salive est porteuse de trypanosomes métacycliques infectants et donne à la glossine son caractère de vecteur. Elle constitue un milieu translucide facile à observer (2) ou à utiliser pour l'application de biotechnologies (PCR* et sondes ADN** (4, 8, 9, 10). De plus, il apparaît d'un grand intérêt de connaître dans le temps l'émission de trypanosomes, son caractère permanent ou transitoire, pour mieux comprendre la compétence vectorielle des glossines. Ce type d'évaluation nécessite le suivi d'une glossine au cours de sa vie.

Une première étude (5) sur le comportement de piqûre et de salivation a permis de retenir certains facteurs favorisant le réflexe de sondage sur lame chauffée (1). Les performances les plus remarquables étant obtenues avec *Glossina morsitans morsitans* infectée par *Trypanosoma congolense*, ce couple est retenu dans cette seconde partie de l'étude.

MATÉRIEL et MÉTHODE

Glossina morsitans morsitans Westwood, 1850, originaire du Zimbabwe, provient de l'élevage commun CIRAD-ORSTOM de Montpellier. *Trypanosoma* (*Nannomonas*) *congolense* Broden, 1904, souche EATRO 325 (type savannah) a été isolée en Ouganda en 1962 (21). Des lapins (néo-zélandais) de 2,5 à 4 kg, inoculés par voie I.V. avec cette souche sont utilisés pour l'infection des mouches ténérales (1-2 jours) tandis que des lapins sains servent ultérieurement à leur alimentation quotidienne. Les glossines sont mises individuellement en position de sonder une microgoutte de liquide (10 µl), sang hépariné ou PSG (phosphate buffered saline glucose), déposée sur une lame chaude (38 °C ± 1) après un jeûne de 72 heures.

1. Ministry of Agriculture, Animal Industry and Fisheries, Department of Entomology, PO Box 201, Entebbe, Ouganda.

2. CIRAD-EMVT, c/o ORSTOM, Département Santé, BP 5045, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

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

Reçu le 24.3.1995, accepté le 4.12.1995.

* Polymerase Chain Reaction.

** Méthode d'hybridation moléculaire.

Suivi individuel des glossines

Deux lots expérimentaux sont constitués :

- Les glossines du premier lot (40 femelles et 11 mâles) prennent les trois premiers repas de sang sur un lapin infecté (parasitémie de $1 \text{ à } 2 \cdot 10^6$ trypanosomes/ml). A un âge de 20 à 45 jours, chaque glossine est placée en position de sonder une goutte de PSG sur la lame chaude.

Les glossines trouvées positives sont placées dans une cage individuelle et leur salivat sera examiné toutes les 72 heures avec la même technique (PSG), soit 6 fois pendant 20 jours.

Les glossines trouvées négatives sont testées 72 heures plus tard par sondage d'une goutte de sang hépariné. Puis, elles sont éliminées.

- Les glossines du deuxième lot (23 femelles et 31 mâles) prennent les 3 premiers repas sur un lapin infecté, mais, à l'âge de 20 à 45 jours, chaque glossine est amenée individuellement à sonder une goutte de sang hépariné.

Les glossines trouvées positives sont placées en cage individuelle et seront testées par sondage dans une goutte de PSG toutes les 72 heures, soit 6 fois pendant 20 jours.

Les glossines trouvées négatives sont testées 72 heures plus tard dans une goutte de PSG puis éliminées.

L'emploi dans un cas du PSG et dans l'autre du sang a pour objet de comparer la capacité de chaque liquide à stimuler la salivation et donc à révéler la présence de trypanosomes. Lorsque celle-ci est acquise, le PSG est le milieu de sondage retenu pour les essais suivants du fait de la visualisation plus aisée des trypanosomes au microscope et de sa facilité de préparation (5).

Suivi groupé de glossines

L'objectif n'est pas ici un suivi individuel, mais le suivi du pourcentage moyen de glossines trouvées infectantes dans chaque groupe.

Deux lots de 30 glossines femelles ténérables sont nourris à raison de trois repas consécutifs sur un lapin infecté par *T. congolense*. Elles seront alimentées pour le reste de leur vie sur un lapin sain. A partir du 25^e jour après le premier repas infectant, les mouches du premier lot sont individuellement amenées à sonder une microgoutte de PSG placée sur une lame chaude, puis elles sont rassemblées dans une même cage. Elles seront testées de la même manière à intervalle de 72 heures au cours de 6 essais.

Le même protocole est utilisé pour le deuxième lot de 30 femelles mais en ajoutant de l'ATP (adénosine 5' triphosphate, SIGMA Chimie) à raison de 0,014 g/20 ml PSG.

Chez les glossines, l'ATP est détecté par des chimiorécepteurs labellaires et induit fortement le réflexe de gorgement *in vitro* (3).

En fin d'expérience, les glossines de ces groupes sont disséquées.

RÉSULTATS

Présence de trypanosomes dans le salivat

Sans tenir compte du liquide de sondage utilisé (PSG ou sang), l'examen de 40 champs microscopiques par individu montre globalement que les pourcentages de glossines trouvées infectées au niveau du proboscis semblent plus importants chez les femelles (28,1 p. 100) que chez les mâles (14,6 p.100) mais il n'y a pas de différence significative ($\Sigma = 1,57$; N.S.). Que ce soit pour les mâles ou pour les femelles considérés séparément, l'emploi du PSG ou du sang hépariné ne change pas le pourcentage de révélation d'infections trypanosomiennes ($\Sigma = 1,58$; N.S. et $\Sigma = 0,49$; N.S.) (tableau I).

Ceci est confirmé par le fait que, chez les glossines femelles (les plus nombreuses) trouvées positives, le changement du support liquide de sondage (remplacement du PSG par le sang et vice versa) ne modifie pas le pourcentage de détection de *T. congolense* ($\Sigma = 0,05$ dans le sens PSG - sang ; N.S.) ($\Sigma = 0,09$ dans le sens sang-PSG ; N.S.) (tableau II).

TABLEAU I

Glossines mâles et femelles détectées infectées après sondage dans du PSG (1^{er} lot) ou du sang hépariné (2^e lot) (couple *G. morsitans* / *Trypanosoma congolense*)

	Mâles		Femelles	
	1 ^{er} lot PSG	2 ^e lot Sang	1 ^{er} lot PSG	2 ^e lot Sang
Nombre (p. 100)	3/10 (30,00)	3/31 (9,70)	9/35 (25,70)	7/22 (31,80)
	6/41 (14,60)		16/57 (28,10)	

TABLEAU II

Positivité comparée du salivat par sondage d'abord dans le PSG puis dans le sang chez toutes les femelles, puis chez les femelles trouvées négatives en inversant le milieu de sondage

	1 ^{re} expérience (toutes les femelles)		2 ^e expérience (femelles trouvées négatives)	
	PSG	Sang	Sang	PSG
Nombre (p. 100)	9/35 (25,70)	7/22 (31,80)	4/16 (25,0)	5/15 (33,30)

Emission des trypanosomes dans le temps

Six mâles et 15 femelles âgés de 40 jours et dont le salivat est positif à cet âge sont suivis individuellement et soumis à un sondage dans une micro-goutte de PSG toutes les 72 heures.

Caractère positif du salivat dans le temps

La détection de *Trypanosoma congolense* par examen microscopique du salivat montre que, toutes les 72 heures, entre 75 et 100 p.100 de l'effectif mâle de *G. m. morsitans* émet des trypanosomes lors des 4 tests successifs de sondage sur lame chaude (moy. = 85,4 ; e.t.* = 10,4) (figure 1).

Chez les 15 femelles, entre 30 et 100 p.100 (moyenne : 60,5 ; e.t. = 24,7) des individus sont trouvés positifs au cours des 6 tests espacés de 72 heures.

Quantité de trypanosomes dans le salivat

Chez les mâles (figure 2), le nombre de trypanosomes émis par individu fluctue fortement dans le temps de 1 à 200 avec une moyenne par essai variant de 6,6 à 126,6 (moyenne sur la totalité des essais = 48,4 ; e.t. = 55,3). Chez les femelles, cette quantité fluctue de 1 à 232 avec une moyenne par essai de 3,6 à 38,7 (moyenne = 19,3 ; e.t. = 14,8) (figure 2). Le petit effectif de mâles ne permet pas de comparer les sexes.

Formes des trypanosomes

Chez les deux sexes, on observe la présence dans le salivat à la fois de formes longues attribuées à des épi-mastigotes et de formes courtes attribuées à des métatrypanosomes infectants. Par individu, les quantités éjectées des formes longues sont dans l'ensemble minoritaires par rapport aux formes courtes.

Chez les mâles, au cours de chaque essai, les formes courtes varient de 2,6 à 126,3 par individu avec une moyenne de 32,5 métatrypanosomes pour la totalité des essais (e.t. = 58,6). Chez les femelles, on compte de 2,7 à 30,7 formes courtes par individu avec une moyenne de 12,2 métatrypanosomes (e.t. = 11,7).

Sur une période de 15 j. d'observation pour les mâles (4 essais espacés de 72 h) et de 21 j. chez les femelles (6 essais espacés de 72 h), on observe une proportion croissante des formes courtes au détriment des formes longues (figures 3 et 4). Les variations apparaissent fortes entre individus et d'un essai à l'autre.

* Ecart-type de l'échantillon.

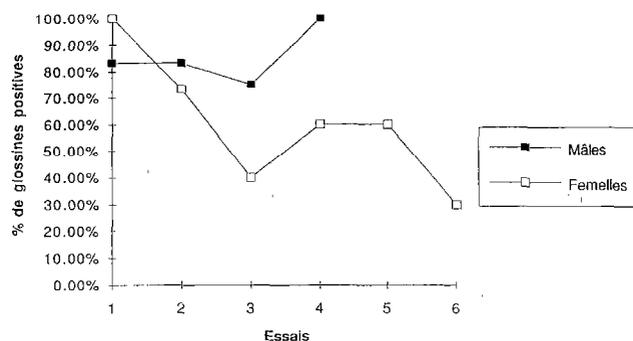


Figure 1 : Positivité des salivats dans le temps : évolution des pourcentages de *G. m. morsitans* trouvés porteurs de *T. congolense* chez 6 mâles et 15 femelles suivis individuellement (sondages espacés de 72 h sur une goutte de PSG chauffée).

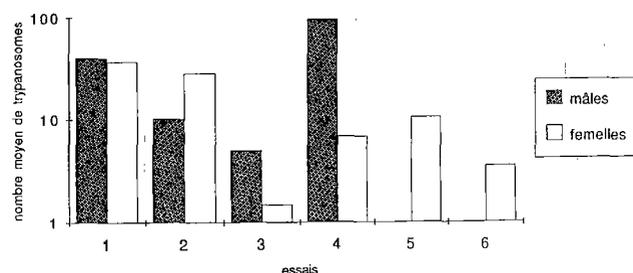


Figure 2 : Nombre moyen de trypanosomes émis par les mâles et les femelles au cours des différents essais.

L'inversion des proportions s'effectue entre le 2^e et le 3^e essai chez les mâles et entre le 1^{er} et le 2^e essai chez les femelles (figures 3 et 4).

Effet de l'addition d'ATP

Les proportions de *G. m. morsitans* femelles trouvées positives par sondage sur support liquide (PSG) avec addition ou non d'ATP, utilisé comme phagostimulant, montrent que (tableau III) :

- avec l'ATP, 11,7 p.100 des salivats de glossines sont trouvés positifs avec une émission moyenne de 38,4 trypanosomes par individu (variation de 2,5 à 72,3 ; e.t. = 26,3) ;

- sans ATP, 24,9 p.100 des salivats sont trouvés positifs avec une émission moyenne de 23,3 trypanosomes par individu (variation de 5,5 à 29,2 ; e.t. = 9,5).

Les proportions de glossines trouvées infectées entre les deux lots sont significativement différentes ($\Sigma = 3,07$; H.S.). Il n'y a pas eu accroissement du nombre d'individus émettant *T. congolense* en utilisant l'ATP.

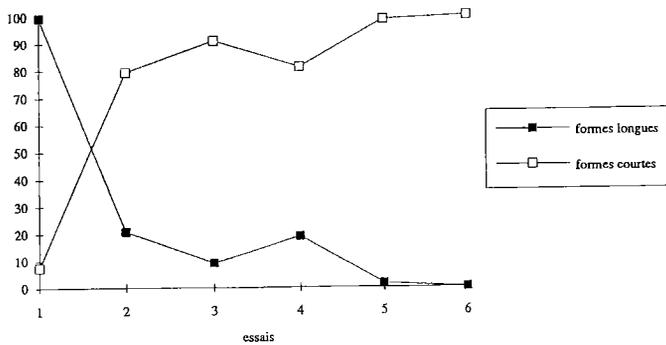


Figure 3 : Evolution des proportions de formes longues et courtes de *T. congolense* au cours de 6 essais espacés de 72 h chez *G. m. morsitans* femelles.

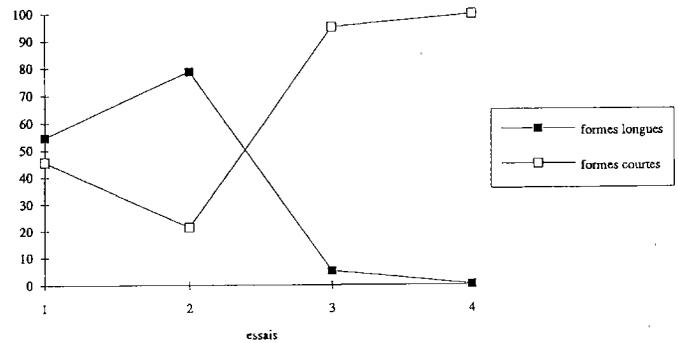


Figure 4 : Evolution des proportions de formes longues et courtes de *T. congolense* au cours de 4 essais espacés de 72 h chez *G. m. morsitans* mâles.

Par contre, dans ce même lot qui sonde dans une goutte de PSG additionné d'ATP, le nombre moyen de trypanosomes par individu (38,4) est significativement supérieur à celui du lot ne recevant pas d'ATP (18,0) ($\Sigma = 2,90$; S). De plus, avec l'ATP utilisé dans les lots de femelles, la proportion de formes courtes apparaît élevée dès le 1^{er} essai (figure 5a) alors que, sans ATP, l'émission ne s'accroît qu'après le 4^e essai (figure 5b).

Les résultats parasitologiques obtenus par la dissection des glossines en fin d'observation ne montrent pas de différence avec ceux de la salivation, tant pour le groupe PSG avec ATP ($\Sigma = 0,87$; N.S.) que pour le groupe PSG sans ATP ($\Sigma = 0,83$; N.S.).

DISCUSSION

Du fait de la charge de travail liée aux manipulations individuelles des glossines, les effectifs en observation sont limités et par conséquent petits. Toutefois, ces résultats confirment les chiffres obtenus par Lamine Dia (comm.

pers.) avec la même sous-espèce de glossine et la même souche de *T. congolense*.

Si le support liquide de sondage (PSG ou sang hépariné) améliore le comportement de sondage (5), l'un n'entraîne pas par rapport à l'autre d'amélioration dans le pourcentage révélé d'infections trypanosomiennes. Les deux permettent une meilleure observation à l'état frais des trypanosomes présents (mobilité dans un substrat liquide).

Le suivi individuel toutes les 72 heures des glossines mâles et femelles reconnues infectées montre que l'état infectant détecté par l'examen microscopique du liquide de sondage (PSG) n'apparaît pas être de 100 p. 100 à chaque essai, et ceci pour les deux sexes. Il reste cependant très élevé en particulier chez les mâles, où il est supérieur à 75 p. 100, mais concerne des petits effectifs. Chez les 15 femelles, il apparaît plus fluctuant.

La salive étant obtenue très artificiellement (lame chauffée), son émission et celle des trypanosomes localisés dans l'hypopharynx ne sont peut-être pas optimales.

TABLEAU III

Emission de *T. congolense* dans le temps par *G. m. morsitans* femelles après sondage du proboscis dans une goutte chauffée de PSG additionnée ou non d'ATP (0,014 g/20 ml)

Essai n°		1	2	3	4	5	6	Total (p. 100)
PSG avec ATP	Nombre de glossines	30	30	28	26	26	22	162
	Salivats positifs	4	6	2	3	2	2	19 (11,7)
	Formes courtes	162	251	13	53	2	25	506 (69,2)
	Formes longues	2	183	1	36	3	0	225 (30,8)
	Nombre de trypanosomes/glossine	41,0	72,3	7,0	29,6	2,5	12,5	Moy. = 38,4 (e.t. = 26,3)
PSG sans ATP	Nombre de glossines	30	30	30	30	25	24	169
	Salivats positifs	7	7	10	8	4	6	42 (24,9)
	Formes courtes	35	51	92	29	115	47	369 (48,8)
	Formes longues	131	121	116	15	2	2	387 (51,2)
	Nombre de trypanosomes/glossine	23,7	24,5	20,8	5,5	29,2	8,1	Moy. = 18,0 (e.t. = 8,7)

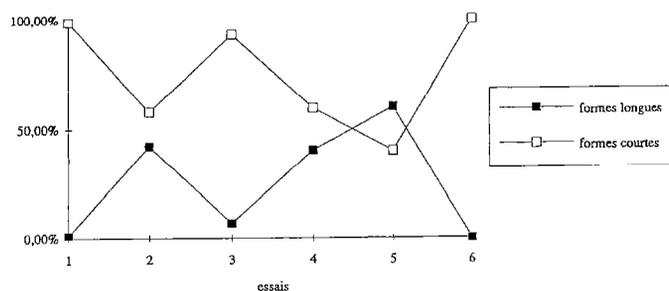


Figure 5a: Emission des formes longues et courtes de *T. congolense* dans une goutte chauffée de PSG avec ATP au cours de 6 essais chez un groupe de *G. m. morsitans* femelles.

Youdeowei (23) observe en effet que l'émission de salive chez *G. m. morsitans* a lieu non pas au moment du percement d'une membrane alaire de chauve-souris, mais principalement juste après, sous forme d'un flot important déposé dans les tissus de l'hôte. Celui-ci n'est peut-être pas aussi massif lorsqu'il s'agit de l'attouchement d'une lame chaude, l'éjection des trypanosomes n'étant pas favorisée par la pénétration mécanique du support ou par des stimuli gustatifs et olfactifs.

Ce caractère positif variable du salivat observé en microscopie optique reste à confirmer par les biotechnologies, la PCR en particulier, pour s'assurer qu'un très faible nombre de trypanosomes émis au cours des sondages n'échappe pas à l'observateur.

Le contact avec un substrat artificiel n'induit probablement pas une décharge unique de salive comme dans un tissu vivant. En effet, il apparaît qu'une glossine peut émettre des trypanosomes au moins dans 10 gouttes de PSG qui lui sont présentées successivement en moins de 2 minutes (travaux en cours), montrant ainsi ses capacités de décharge parasitaire intermittente *in vitro* (23). Ceci est un facteur important d'amplification de la capacité vectorielle (nombre de nouvelles infections par situation et par jour) pouvant expliquer les fortes prévalences chez le bétail par rapport aux relativement faibles prévalences chez les glossines sur le terrain.

Les quantités de *T. congolense* émises varient beaucoup par individu et à l'occasion de chaque test. Dans tous les cas, on observe l'émission d'un mélange de formes longues et de formes courtes avec une domination croissante des formes courtes métacycliques. Il est connu en effet que des épimastigotes du labre et des formes trypanomastigotes longues venant du proventricule peuvent être régurgitées (16).

Mawuena *et al.* (14), avec le même couple *G. m. morsitans* / *T. congolense* et la même technique de salivation sur lame chaude (jeûne de 24 h mais sans support liquide) trouvent des résultats très voisins avec une émission moyenne de 31,7 métatrypanosomes infectants par glossine (tous sexes confondus) et une domination progressive des formes courtes sur les formes longues avec le

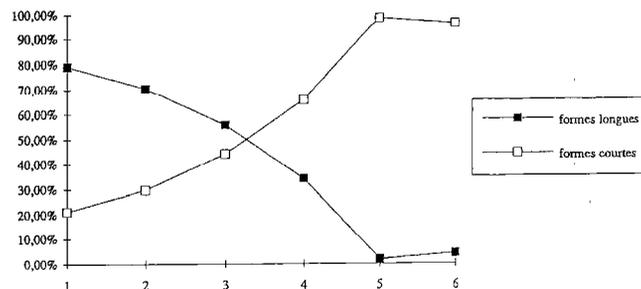


Figure 5b: Emission des formes longues et courtes de *T. congolense* dans une goutte chauffée de PSG sans ATP au cours de 6 essais chez un groupe de *G. m. morsitans* femelles.

temps. Selon ces auteurs, le nombre moyen de métatrypanosomes éjectés pourrait être lié au nombre initial de repas infectants pris par la glossine.

Toutefois, sachant qu'un seul trypanosome sanguin peut infecter une glossine « réceptive » (13), il semble plus probable que l'installation de l'infection intestinale chez la glossine et surtout la maturation des trypanosomes jusqu'à l'obtention des formes infectantes dans l'appareil piqueur, soient dépendantes des niveaux d'activité enzymatique du tube digestif et des niveaux de lectines qui donnent les messages de migration, mais surtout de transformation et de maturation des trypanosomes au cours de leur cycle (11, 12, 22). Les différences de niveaux des lectines intestinales entre sexes pourraient expliquer l'évolution du rapport entre formes longues et formes courtes qui apparaît ici avec une inversion des proportions plus précoce chez les femelles que chez les mâles qui reste à confirmer (expérience en cours).

L'adjonction d'ATP n'a pas affecté la proportion de glossines trouvées positives. L'ATP est utilisé classiquement dans les élevages de masse de glossines nourries sur membrane de silicone (6) pour stimuler le réflexe de piqûre, car ce nucléotide et d'autres analogues de l'ATP (3) sont détectés par des chimiorécepteurs de l'extrémité du labium (20) et accroissent le comportement de piqûre/gorgement de la glossine (15), ce qui laissait espérer une meilleure salivation et donc une émission facilitée des trypanosomes de l'hypopharynx. Les proportions de salivats positifs n'ont pas été accrues pour les lots de femelles sondant sur le PSG additionné d'ATP par rapport à celui ne recevant pas d'ATP. Toutefois, bien que nourris initialement au même moment et sur le même lapin infectant, les deux lots n'ont pas acquis forcément la même prévalence d'infection au niveau du proboscis.

En revanche, le nombre moyen de trypanosomes par salivat est pratiquement double dans le lot sondant le PSG additionné d'ATP (38,4 contre 18 trypanosomes/glossine/essai). Si l'ATP semble donc favoriser l'éjection des trypanosomes, cet effet s'exerce tout particulièrement vis-à-vis des formes courtes.

La maturation de *T. congolense* semble se dérouler assez tardivement (glossines de 25-30 jours) et se pour-

suivre (effondrement du nombre de formes épimastigotes et augmentation du nombre de formes courtes) au cours des sondages après 30 jours d'âge. Des études menées sur le même couple vecteur-parasite (7) ont montré que 25 p.100 des glossines ont été décelées positives grâce à la technique de salivation entre le 12^e et le 40^e jour après le repas infectant.

Il est surprenant d'observer des pourcentages élevés de formes longues chez des glossines âgées de 40 jours. Des expériences en cours sur un suivi du même couple *G. m. morsitans/T. congolense* mais menées depuis l'éclosion des mouches confirment la présence d'un pourcentage de formes longues ayant certes tendance à baisser dans le temps mais pouvant atteindre 50 p.100 entre 40 et 50 jours traduisant un processus de maturation continu avec l'âge.

CONCLUSION

Le couple vecteur-parasite *Glossina morsitans-Trypanosoma congolense* est un modèle couramment exploité dans des études expérimentales. En effet de forts pourcentages d'infections matures peuvent être obtenus en laboratoire. De plus, en milieu naturel, les glossines appartenant au groupe *morsitans* sont reconnues comme d'excellents vecteurs des trypanosomoses animales, notamment du type *Nannomonas*.

Cette étude a permis d'évaluer plus précisément la technique de salivation sur lame chauffée et d'apporter quelques éléments d'amélioration pour détecter la présence des parasites chez une glossine infectante sans avoir à la disséquer. Elle confirme et complète les résultats précédemment obtenus par d'autres auteurs grâce à une technique délaissée pour le travail fastidieux qu'elle impose. Néanmoins, elle permet de travailler sur des glossines infectées vivantes et d'appréhender concrètement quelques aspects physiologiques et comportementaux des relations parasites-vecteurs.

La réhabilitation de ces techniques associée à la maîtrise des technologies moléculaires (PCR notamment) laisse entrevoir d'intéressantes perspectives de recherches actuellement mises en œuvre. L'apport de ces études de laboratoire est de mieux comprendre le comportement des glossines infectées dans la nature pour mieux préciser leur rôle parfois obscur dans l'épidémiologie de la maladie.

Bibliographie

- BURT E., 1946. Salivation by *Glossina morsitans* on to glass slides : a technique for isolating infected flies. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **40** : 141-144.
- FAIRBAIRN H., WILLIAMSON J., 1956. The composition of tsetse fly saliva. I. A histochemical analysis. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **50** : 322-333.
- GALUN R., KABAYO J.P., 1988. Gorging response of *Glossina palpalis palpalis* to ATP analogues. *Physiol. Entomol.*, **13** : 419-423.
- GIBSON W.C., DUKES P., GASHUMBA J.K., 1988. Species specific DNA probes for identification of African trypanosomes in tsetse flies. *Parasitology*, **97** : 63-73.
- GIDUDU A.M., CUISANCE D., REIFENBERG J.M., FRÉZIL J.L., 1995. Amélioration de la technique de salivation des glossines pour la détection des métatrypanosomes infectants : étude de quelques facteurs biologiques et non biologiques sur le comportement de sondage des glossines. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.*, **48** (2) : 153-160.
- ITARD J., BAUER B., 1984. Elevages des glossines. Synthèse. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.*, **37** (n° spécial) : 143-175.
- LADIKPO E., 1989. Relation vecteur-parasite au cours du cycle de *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* chez *Glossina morsitans morsitans* : étude structurale et ultrastructurale. Thèse doct., Spécialité Sciences biologiques, Parasitologie, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France, 144 p.
- McNAMARA J.J., SNOW W.F., 1990. Improved identification of *Nannomonas* infections in tsetse flies from The Gambia. *Acta trop.*, **48** : 127-136.
- 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-coats samples from antigenaemic and aparasitaemic cattle. *Parasitology*, **108** : 312-322.
- 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. Parasit.*, **22** : 909-918.
- 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*, 7. New York, USA, Springer Verlag, p. 117-148.
- 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.*, **38** : 167-170.
- MAUDLIN I., WELBURN S.C., 1989. A single trypanosome is sufficient to infect a tsetse fly. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **83** : 431-433.
- MAWUENA K., DOUMEY K., AKAKPO K., 1984. Nombre probable de *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* transmits par *Glossina morsitans morsitans*. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.*, **37** (n° spécial) : 186-191.
- MITCHELL B.K., 1976. Physiology of an ATP receptor in labellar sensilla of the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans*. *Westw. J. exp. Biol.*, **65** : 259-271.
- MULLIGAN H.W., POTTS W.H., 1950. The African trypanosomiasis. London, U.K., George Allen and Unwin Ltd., 950 p.
- NITCHEMAN S., JACQUIET P., 1990. Utilisation de souriceaux pour la mise en évidence de l'infectivité des glossines. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.*, **43** : 219-223.
- OTHIENO L.H., 1993. Inadequacy of the dissection method for estimating trypanosome infection rates. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **77** : 329-330.
- REISEN W.H., 1989. Estimation of vectorial capacity : introduction. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, **14** : 39-40.
- RICE M.J., GALUN R., MARGALIT J., 1973. Mouthpart sensilla of the tsetse fly and their function : labial sensilla. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **67** : 101-107.
- UILENBERG G., MAILLOT L., GIRET M., 1973. Etudes immunologiques sur les trypanosomes. II. Observations nouvelles sur le type antigénique de base d'une souche de *Trypanosoma congolense*. *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.*, **26** : 27-35.
- WELBURN S.C., ARNOLD K., MAUDLIN I., GOODAY G.W., 1993. Rickettsia-like organisms and chitinase production in relation to transmission of trypanosomes by tsetse flies. *Parasitology*, **107** : 141-145.
- YOUDEOWEI A., 1975. A simple technique for observing and collecting the saliva of tsetse flies (Diptera, Glossinidae). *Bull. ent. Res.*, **65** : 65-67.

A.M. Gidudu D. Cuisance J.M. Reifenberg J.L. Frézil

GIDUDU (A.M.), CUISANCE (D.), REIFENBERG (J.M.), FRÉZIL (J.L.). Contribution to the study of the ejection of *Trypanosoma congolense* by *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae) in the laboratory. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1995, **48** (3) : 264-270.

The process of trypanosome ejection was studied in *Glossina morsitans morsitans* experimentally infected with *Trypanosoma congolense* EATRO 325 (savannah type). The technique used was that of salivation on warm slides (38 °C) for 5 minutes. The effect of various media (PSG, blood, PSG + ATP) was evaluated. Whatever the sex of the flies, the percentages of infections revealed by this technique do not differ significantly using either PSG or blood. Detection of parasites by microscopic examination of saliva showed that 75 to 100 % of the males eject trypanosomes during successive probes, whereas 30 to 100 % of the females were found to be positive using the same procedure. The number of trypanosomes ejected per fly varied greatly in the course of time, with an average of 48.4 (of which 32.5 were infective metatrypanosomes) among the males and 19.3 (of which 12.2 were infective metatrypanosomes) among the females, with an increasing proportion of stumpy forms. Addition of ATP did not affect the proportion of flies found positive, but seemed to favour the ejection of trypanosomes notably stumpy infectant forms. These results are discussed by comparing the aspects of the vector-parasite relationships and the vectorial capacity of *G. morsitans morsitans* with a parasite belonging to the subgenus *Nannomonas*.

Key words : *Trypanosoma congolense* - Trypanosomosis - *Glossina* - Vectorborne disease - Saliva.

GIDUDU (A.M.), CUISANCE (D.), REIFENBERG (J.M.), FRÉZIL (J.L.). Contribución al estudio de la eliminación de *Trypanosoma congolense* por parte de la *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae), bajo condiciones de laboratorio. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1995, **48** (3) : 264-270.

Se estudió el proceso de eliminación de tripanosomas por parte de la *Glossina morsitans morsitans*, infectada en forma experimental con *Trypanosoma congolense* EATRO 325 (tipo savannah). Se utilizó la técnica de la salivación inducida sobre lámina caliente (38 °C), durante 5 min. Se evaluó también la influencia de los diversos tipos de soporte (PSG, sangre, PSG + ATP). Se obtuvieron los porcentajes de infección, independientemente del sexo, los cuales no difieren significativamente mediante esta técnica, con la utilización de PSG o de sangre. La detección de parásitos por medio del examen microscópico de la saliva demuestra que 75 a 100 por ciento de los machos eliminan los tripanosomas durante diversos exámenes sucesivos, mientras que 30 a 100 por ciento de las hembras se detectaron positivas únicamente en el curso de un mismo protocolo. La cantidad de tripanosomas eliminados por individuo varía en forma importante con el tiempo, con un promedio de 48,4 (de los cuales 32,5 metatripanosomas infectantes) para los machos y de 19,3 (de los cuales 12,2 metatripanosomas infectantes) para las hembras, con una proporción creciente de formas cortas. La adición de ATP no afecta la proporción de glosinas positivas, pero parece favorecer la eliminación de tripanosomas, sobre todo de las formas infectantes. Se discuten los resultados en cuanto a las relaciones vector-parásito y a la capacidad vectorial de *G. morsitans morsitans*, con respecto a un parásito perteneciente al sub género *Nannomonas*.

Palabras clave : *Trypanosoma congolense* - Tripanosomosis - *Glossina* - Enfermedad transmitida vector - Saliva.