

# 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

A.M. Gidudu<sup>1</sup>, D. Cuisance<sup>2</sup>, J.M. Reifenberg<sup>2</sup>, J.L. Frézil<sup>3</sup>

**GIDUDU (A.M.), CUISANCE (D.), REIFENBERG (J.M.), FREZIL (J.L.)**. 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. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1995, **48** (2) : 153-160

Le comportement de sondage et de salivation sur lame chauffée est examiné chez trois espèces ou sous-espèces de glossines (*Glossina morsitans morsitans*, *Glossina palpalis gambiensis*, *Glossina tachinoides*) en fonction de certains paramètres (espèce, sexe, âge, durée du jeûne, infection trypanosomienne, qualité du support). A chaque glossine est offerte l'opportunité de "sonder" une lame chauffée (38°C) pendant 5 minutes (on entend par sondage une tentative d'attouchement de la lame par le proboscis en position de piqûre). *G. m. morsitans* est de loin la plus apte à sonder (70,50 p.100) par rapport à *G. tachinoides* (50,50 p.100) et *G. palpalis gambiensis* (45,80 p.100). Globalement, les mâles (61,30 p.100) sont plus actifs que les femelles (52 p.100) et ceux de *G. m. morsitans* beaucoup plus que ceux du groupe *palpalis*. Les glossines ténères sondent plus facilement que les glossines non ténères avec un avantage net de *G. m. morsitans*. La durée du jeûne accroît les tentatives de sondage mais, à 48 h, *G. m. morsitans* a sondé autant que *G. palpalis gambiensis* et que *G. tachinoides* à 72 h. Les mâles de *G. m. morsitans* et de *G. palpalis gambiensis* sont plus précoces que les femelles et l'inverse est observé chez *G. tachinoides*. L'infection par *T. congolense* (souche EATRO 325) n'affecte pas le comportement de sondage des mâles des trois espèces mais semble abaisser celui des femelles du groupe *palpalis*. L'adjonction d'une goutte de PSG ou de sang améliore le comportement de sondage des femelles infectées de *G. m. morsitans* (les seules testées). Les résultats sont discutés en fonction des données biologiques et des connaissances sur les systèmes récepteurs des glossines.

**Mots-clés** : *Glossina* - Comportement - Morsure - Trypanosomose.

## INTRODUCTION

Dans la nature, on reste surpris par l'évolution rapide et parfois dramatique de certains "foyers" de trypanosomoses alors que les pourcentages de glossines trouvées infectantes sont faibles. Ces observations sont basées classiquement sur la dissection des organes de prédilection de la multiplication et de la transformation des trypanosomes (intestin moyen, glandes salivaires, proboscis) (3). Cette approche reste cependant très imparfaite, car les faibles infections initiales peuvent échapper à l'observateur et de plus elle est longue et fastidieuse (22). D'autres voies ont donc été recherchées comme la mise

en milieu de culture de l'intestin moyen (17 ; Ph. Truc, com. pers.) qui améliore sensiblement la détection des trypanosomes, mais reste peu praticable sur le terrain et ne sélectionne que certaines souches de parasites.

Les méthodes récentes de la biologie moléculaire, sondes ADN (méthode d'hybridation moléculaire) et PCR (Polymerase Chain Reaction) en particulier, sont en voie d'améliorer considérablement par leur sensibilité et leur spécificité la détection et l'identification du parasite dans les différentes parties du corps de l'insecte (8, 12, 13, 15). Toutefois, ces méthodes sont lourdes, complexes et onéreuses et ne sont applicables que dans des laboratoires spécialisés bien équipés. De plus, au niveau du tube digestif (intestin moyen), les produits de la digestion du sang sont la source d'effets inhibiteurs entravant la reproductibilité des résultats, ce qui n'est pas le cas au niveau du proboscis (15).

C'est pourquoi les auteurs se sont intéressés à la technique de salivation sur lame chaude, qui a été couramment utilisée dans le passé pour une recherche parasitologique plus facile des trypanosomes (2, 16, 20).

L'objectif de cette expérience est d'évaluer le rôle de certains facteurs biologiques et non biologiques conditionnant le comportement de piqûre et le processus de salivation des glossines en vue d'améliorer la détection des trypanosomes infectants dans le salivat qui est "le liquide-clef", indicateur de la capacité infectante de la mouche.

## MATÉRIEL et MÉTHODES

Trois espèces ou sous-espèces de glossines provenant de l'élevage commun CIRAD-ORSTOM de Montpellier (France) sont utilisées : *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank, 1949, originaire du Burkina Faso, *Glossina morsitans morsitans* Westwood, 1850, originaire du Zimbabwe et *Glossina tachinoides* Westwood, 1850, originaire du Tchad et du Burkina Faso. Pour simplifier, dans la suite de l'exposé, on parlera d'espèces.

*Trypanosoma (Nannomonas) congolense* Broden, 1904, souche EATRO 325 (Savannah type), isolé en Ouganda en 1962 d'une glossine (24) a été retenu pour cette étude, car il infecte facilement le lapin.

1. Ministry of Agriculture, Animal Industry and Fisheries, Department of Entomology, POB 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 21.7.1995.

### Infection des glossines et leur maintenance

Des lots de 15 à 30 mouches ténéales (1-2 j.) de chaque sexe et de chaque espèce sont nourris sur le lapin infecté par *T. congolense* (EATRO 325) dont la parasitémie est comprise entre 0,5 et 2.10<sup>6</sup> trypanosomes par ml (estimée selon la méthode de Herbert et Lumsden) (9). La durée du repas infectant est de 15 minutes. Après 2 ou 3 repas infectants successifs, les glossines infectées sont entretenues sur un lapin nourricier sain dont le sang est surveillé quotidiennement (examen à l'état frais). Un repas est proposé chaque jour pendant 5 jours par semaine. Dès que le lapin nourricier est trouvé infecté, il est immédiatement traité par un trypanocide (acéturate de diminazène, Bérénil®) et remplacé par un autre lapin sain. Les mouches sont entretenues dans un insectarium dont la température est de 24°C ± 1,5 et l'humidité relative de 65 à 75 p.100.

### Comportement de sondage des glossines sur support sec

Les mouches infectées âgées de 20 à 45 j. et vierges, sont placées individuellement dans un tube en verre (2 cm de diamètre et 10 cm de hauteur), fermé par un morceau de tulle moustiquaire et rendu opaque sur les trois quarts de sa longueur afin de provoquer leur déplacement vers la partie éclairée. L'ouverture de ce tube est placée directement sur une lame sèche posée sur une plaque chauffante (38°C ± 1), et le comportement de la mouche est observé pendant 5 minutes, en évaluant après les durées de jeûne de 24 h, 48 h, 72 h et 96 h le nombre de sondages (0 sondage, 1 sondage, sondages répétés) (un sondage est pris au sens d'une tentative d'attouchement de la lame par le proboscis en position de piqûre). Le même protocole est appliqué avec les mêmes durées de jeûne pour les mouches non-infectées, d'une part non ténéales (âgées de 20-45 j.) et d'autre part ténéales (âgées de 1-2 j.).

### Comportement de sondage sur support liquide

Quarante femelles et 11 mâles *G. morsitans morsitans* infectés (âgés de 20-45 j. et à jeun de 72 h) sont mis individuellement dans un tube opaque dont l'ouverture est fermée par un tulle. Le tube est placé juste au-dessus d'une microgoutte de PSG (phosphate-buffered saline-glucose) déposée sur une lame chauffée à 38°C ± 1 donnant la possibilité à la glossine de "sonder" la microgoutte. Le même protocole est appliqué à 23 *G. m. morsitans* femelles et 31 *G. m. morsitans* mâles mais en remplaçant le PSG par du sang hépariné.

### Piqûre à travers une membrane de polythène

En vue de simuler la peau d'un animal et éventuellement de favoriser la salivation, on propose à des lots de *Glossina m. morsitans*, *G. tachinoides* et *G. palpalis gambiensis* de piquer à travers deux types de membranes fines en polythène (film micro-ondes avec ou sans microperforations). Trois lots de mouches d'élevage (femelles âgées de 20-45 j.) sont constitués (1 pour chacune des espèces). Chaque cage de 25 à 30 glossines est enveloppée par une membrane en polythène, et placée sur l'oreille d'un lapin pendant 10 minutes. Les mouches qui se gorgent sont comptées et retirées de la cage. Les mouches non-gorgées sont remises sur l'oreille du lapin dans la même cage mais sans membrane et les mouches ainsi gorgées sont comptées et retirées.

## RÉSULTATS

Le comportement de sondage est évalué en pourcentage de mouches effectuant une ou plusieurs tentatives de piqûre ou aucune pendant 5 minutes d'observation. La comparaison de deux proportions est basée sur le test  $\Sigma$  et pour certains effectifs sur le test  $\chi^2$  (au risque 5 p.100).

### Comportement de sondage sur support sec

#### Effet "espèce"

Quels que soient le sexe, l'âge, la durée du jeûne et l'état d'infection (tableau I), les trois espèces montrent entre elles des différences très significatives dans leur comportement ( $\chi^2 = 89,12$  ; d.d.l. = 2 ; H.S.). *G. m. morsitans* se distingue nettement avec une proportion élevée de mouches qui effectuent un ou plusieurs sondages (70,50 p.100) par rapport à *G. tachinoides* (50,50 p.100) et *G. palpalis gambiensis* (45,80 p.100). Il n'y a pas de différence significative entre *G. tachinoides* et *G. palpalis gambiensis* ( $\Sigma = 1,67$  ; N.S.).

TABLEAU I

Comportement de sondage selon les trois espèces (quels que soient le sexe, l'âge, la durée du jeûne, l'état et infection)

	<i>G. tachinoides</i>	<i>G. p. gambiensis</i>	<i>G. m. morsitans</i>
0 sondage	317 (49,50*)	347 (54,20)	189 (29,50)
1 ou > 1 sondages	323 (50,50)	293 (45,80)	451 (70,50)

\* pourcentage entre parenthèses.

*G. p. gambiensis* : *G. palpalis gambiensis* ; *G. m. morsitans* ; *G. morsitans morsitans*.

TABLEAU II  
Comportement de sondage selon le sexe et l'espèce (quels que soient l'âge, la durée du jeûne, l'état d'infection)

	Mâles			Femelles		
	<i>G. tachinoides</i>	<i>G. p. gambiensis</i>	<i>G. m. morsitans</i>	<i>G. tachinoides</i>	<i>G. p. gambiensis</i>	<i>G. m. morsitans</i>
0 sondage	181 (56,60')	139 (43,40)	52 (16,25)	136 (42,50)	208 (65,00)	117 (36,56)
1 ou > 1 sondages	139 (43,40)	181 (56,60)	268 (83,75)	184 (57,50)	112 (35,00)	203 (63,44)
Total	320	320	320	320	320	320

' pourcentage entre parenthèses.

*G. p. gambiensis* : *G. palpalis gambiensis* ; *G. m. morsitans* : *G. morsitans morsitans*.

### Effet "sexe"

Sans tenir compte de l'espèce, de l'âge, de la durée du jeûne et de l'état d'infection (tableau II), les mâles effectuent plus facilement et de façon très significative des tentatives de piqûre que les femelles : 61,30 p.100 pour les mâles et 52,00 p.100 pour les femelles ( $\Sigma = 4,09$  ; H.S.).

Chez les mâles, *G. m. morsitans* (87,75 p. 100) (groupe *morsitans*) effectue plus facilement des tentatives de piqûre que les deux espèces du groupe *palpalis* : *G. palpalis gambiensis* (56,60 p.100), *G. tachinoides* (43,40 p.100).

Chez les femelles, il n'y a pas de différence entre le comportement de *G. m. morsitans* (63,44 p.100) et celui de *G. tachinoides* (57,50 p.100) ( $\Sigma = 1,53$  ; N.S.), mais il existe une différence significative entre *G. tachinoides* et *G. palpalis gambiensis* (35,00 p. 100) ( $\Sigma = 5,70$  ; H.S.).

### Effet "âge"

Quels que soient l'espèce, le sexe, la durée du jeûne et l'état d'infection (tableau III), les ténérales font des sondages plus facilement (76,30 p. 100) que les mouches non ténérales (43,60 p. 100) ( $\Sigma = 9,03$  ; H.S.).

En examinant chaque espèce (tableau IV), la différence entre ténérales et non ténérales se confirme pour *G. tachinoides* ( $\Sigma = 8,62$  ; S), pour *G. palpalis gambiensis* ( $\Sigma = 3,90$  ; S) et pour *G. m. morsitans* ( $\Sigma = 3,68$  ; S). Cependant, les ténérales de *G. tachinoides* (86,25 p. 100) et celles de *G. m. morsitans* (87,50 p. 100) qui ne diffèrent pas entre elles ( $\Sigma = 0,23$  ; N.S.), se distinguent significativement de *G. palpalis gambiensis* (55,0 p. 100) ( $\Sigma = 4,33$  et 4,54 ; S.).

Chez les non-ténérales, *G. m. morsitans* sonde significativement en plus forte proportion (66,56 p.100) que *G. tachinoides* (32,80 p.100) et que *G. palpalis gambiensis* (31,60 p.100) ( $\Sigma = 8,53$  et 8,85 ; H.S.). Ces deux dernières ne se différencient pas entre elles ( $\Sigma = 0,33$  ; N.S.).

TABLEAU III  
Comportement de sondage selon les deux groupes d'âge (quels que soient l'espèce, le sexe, la durée du jeûne, l'état d'infection)

	Ténérales (1-2 j.)	Non ténérales (20-45 j.)
0 sondage	57 (23,80')	541 (56,40)
1 ou > 1 sondages	183 (76,30)	419 (43,60)
Total	240	960

' pourcentage entre parenthèses.

TABLEAU IV  
Comportement de sondage selon l'âge et l'espèce (quels que soient le sexe, la durée du jeûne, l'état d'infection)

	Ténérales (1-2 j.)			Non ténérales (20-45 j.)		
	<i>G.t.</i>	<i>G.p.g.</i>	<i>G.m.m.</i>	<i>G.t.</i>	<i>G.p.g.</i>	<i>G.m.m.</i>
0 sondage	11 (13,75')	36 (45,00)	10 (12,50)	215 (67,20)	219 (68,40)	107 (33,44)
1 ou > 1 sondages	69 (86,25)	44 (55,00)	70 (87,50)	105 (32,80)	101 (31,60)	213 (66,56)
Total	80	80	80	320	320	320

' pourcentage entre parenthèses.

*G.t.* = *G. tachinoides* ; *G.p.g.* = *G. palpalis gambiensis* ; *G.m.m.* = *G. morsitans morsitans*.

TABLEAU V  
Comportement de sondage selon l'âge et le sexe  
(toutes espèces confondues).

	Ténérales (1-2 j.)		Non ténérales (20-45 j.)	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
0 sondage	17 (14,2)	40 (33,30)	253 (52,70)	288 (60,0)
1 ou > 1 sondages	103 (85,80)	80 (66,70)	227 (47,30)	192 (40,00)
Total	120	120	480	480

\* pourcentage entre parenthèses.

Les mâles ténéraux (tableau V) ont un comportement de sondage significativement plus élevé (85,80 p. 100) que les mâles non ténéraux (47,30 p.100) ( $\Sigma = 7,59$  ; H.S.).

Les femelles ténérales sondent significativement plus (66,70 p. 100) que les femelles non ténérales (40,00 p.100) ( $\Sigma = 5,24$  ; H.S.).

Quel que soit l'âge (ténérales ou non ténérales), les mâles ont une propension à sonder plus grande que les femelles ( $\Sigma = 3,48$  et  $2,27$  ; S.).

### Effet "durée du jeûne"

Sans tenir compte de l'espèce, du sexe, de l'âge et de l'état d'infection, le pourcentage de glossines tentant de sonder s'accroît très rapidement avec la durée du jeûne de 24 à 72 h mais change peu après (96 h) (fig. 1).

Une durée de jeûne de 48 h provoque un comportement de sondage chez 75 p. 100 des *G. m. morsitans*. Il faut plus de 72 h à *G. tachinoides* et *G. palpalis gambiensis* pour obtenir le même pourcentage.

Avec l'allongement de la durée du jeûne, le pourcentage de tentatives de sondages (toutes espèces confondues) augmente chez les deux sexes. Aux délais de 24 et 48 h, il n'y a pas de différence significative entre mâles et femelles ( $\Sigma = 1,35$  et  $\Sigma = 1,92$  ; N.S.) bien que la précocité apparente soit à l'avantage des mâles. Par contre, aux délais de 72 h et 96 h, les mâles ont sondé en plus grande proportion que les femelles ( $\Sigma = 2,90$  et  $\Sigma = 2,45$  ; S.).

Selon les espèces, le comportement de sondage apparaît très différent entre sexes : *G. m. morsitans* se distingue nettement des deux autres espèces pour les mâles et pour les femelles avec un comportement de sondage plus précoce des mâles jusqu'à 72 h. Par contre, les femelles de *G. tachinoides* sondent significativement plus que les mâles aux délais de 24 et 48 h ( $\Sigma = 4,25$  et  $2,38$  ; S.), la différence disparaissant ensuite ( $\Sigma =$

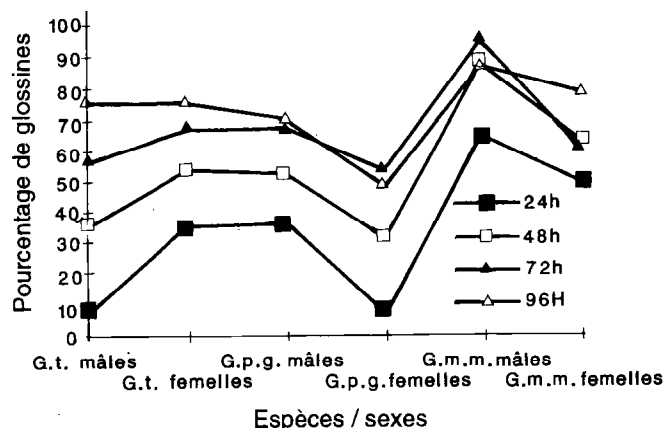


Figure 1 : Effet de la durée du jeûne, du sexe et de l'espèce sur le comportement de sondage des glossines (G.t. : *Glossina tachinoides* ; G.p.g. : *Glossina palpalis gambiensis* ; G.m.m. : *Glossina morsitans morsitans*).

1,29 et 0 ; N.S.). Chez cette espèce et pour les deux sexes, le comportement de sondage s'accroît régulièrement jusqu'à 72 et même 96 h.

Chez *G. palpalis gambiensis*, les mâles sondent significativement plus que les femelles aux délais de 24 et 48 h, la différence disparaissant à 72 h ( $\Sigma = 1,78$  ; N.S.) et réapparaissant à 96 h ( $\Sigma = 2,73$  ; S.).

### Effet "infection trypanosomienne"

Sans tenir compte de l'espèce, du sexe, de l'âge et de l'état de jeûne, le groupe sain a sondé en proportion plus élevée (61 p.100) que le groupe infecté (51,9 p.100) ( $\chi^2 = 16,40$  ; d.d.l. = 1 ; H.S.). L'analyse par espèce et par sexe permet d'être plus précis (tableau VI).

Chez les mâles, en comparant les lots infectés et les lots non infectés, le facteur "infection trypanosomienne" ne modifie pas le comportement de sondage pour les 3 espèces de glossines prises globalement ( $\Sigma = 1,96$  ;  $\Sigma = 1,01$  ;  $\Sigma = 1,5$  ; N.S.).

Concernant les femelles, alors que chez *G. m. morsitans* il n'y a pas de différence significative du comportement en fonction de l'état d'infection ( $\Sigma = 0,5$  ; N.S.), chez les deux glossines du groupe *palpalis* (*G. palpalis gambiensis* et *G. tachinoides*), les individus non infectés ont un comportement de sondage significativement supérieur aux individus infectés ( $\Sigma = 8,36$  et  $\Sigma = 3,04$  ; H.S.).

Les trois espèces infectées se distinguent significativement entre elles ( $\chi^2 = 71,5$  ; d.d.l. = 2 ; H.S.) par ordre décroissant d'activité : *G. m. morsitans* (71,25 p.100), *G. palpalis gambiensis* (43,1 p.100) et *G. tachinoides* (41,60 p.100) sans que les deux dernières espèces se distinguent entre elles.



TABLEAU VI  
Comportement de sondage des glossines entre le groupe infecté et le groupe sain

	Non infectés									Infectés								
	G.t.			G.p.g.			G.m.m.			G.t.			G.p.g.			G.m.m.		
	♂	♀	T	♂	♀	T	♂	♀	T	♂	♀	T	♂	♀	T	♂	♀	T
0 sondage	99	31	130	74	91	165	21	56	77	82	105	187	65	117	182	31	61	92
	(61,90)	(19,40)		(46,25)	(56,90)		(13,10)	(35,0)		(51,30)	(65,60)		(40,60)	(73,10)		(19,40)	(38,10)	
1 ou > 1 sondages	61	129	190	86	69	155	139	104	243	78	55	133	95	43	138	129	99	228
	(38,10)	(80,60)		(53,75)	(43,10)		(86,90)	(65,0)		(48,80)	(34,40)		(59,40)	(26,90)		(80,60)	(61,90)	
Total	320			320			320			320			320			320		

G.t. = *G. tachinoides* ; G.p.g. = *G. palpalis gambiensis* ; G.m.m. = *G. morsitans morsitans*.

T : total.

\* Pourcentage entre parenthèses.

Les mâles infectés de *G. m. morsitans* (80,6 p.100) dominent significativement les deux autres espèces (*G. palpalis gambiensis* : 59,4 p.100 et *G. tachinoides* : 48,8 p.100) qui ne se départagent pas entre elles ( $\Sigma = 1,96$  ; N.S.). Les femelles infectées de *G. m. morsitans* (61,9 p.100) sondent significativement plus que celles de *G. tachinoides* (34,4 p.100) ( $\Sigma = 6,30$ ) et que celles de *G. palpalis gambiensis* (26,9 p.100) ( $\Sigma = 4,92$ ).

### Comportement de sondage sur support liquide

En comparant l'emploi d'une goutte de PSG et d'une goutte de sang hépariné comme milieu de sondage sur le comportement de *G. m. morsitans* (tableau VII), on constate que, chez les deux sexes, le réflexe de sondage est identique avec les deux liquides ( $\Sigma = 1,69$  pour les mâles ;  $\Sigma = 1,06$  pour les femelles ; N.S.). En ne retenant que le groupe femelles infectées (à jeûn depuis 72 h) de *G. m. morsitans* (le plus nombreux), celui-ci sonde en plus fort pourcentage sur le support liquide (90,5 p.100) que sur le support sec (75 p.100) ( $\Sigma = 3,11$  ; S.).

### Effet de l'emploi d'une membrane synthétique

Seulement 13 p.100 des *G. tachinoides* et 25 p.100 des *G. m. morsitans* traversent la membrane microperforée pour se nourrir sur le lapin, mais aucune *G. palpalis gambiensis* (tableau VIII). On remarque cependant la plus grande faculté de *G. m. morsitans* à traverser ce type de matériel. Aucun individu, quelle que soit l'espèce, ne traverse la membrane non microperforée.

TABLEAU VII  
Comportement de sondage en fonction du support liquide (PSG ou sang) chez les 2 sexes (jeûne : 72 h ; âge : 24-45 j.).

	PSG		Sang hépariné	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
0 sondage	1	5	0	1
	(9,09)	(12,50)	(0)	(4,35)
1 ou > 1 sondages	10	35	31	22
	(90,9)	(87,50)	(100,0)	(95,65)
Total	11	40	31	23

\* Pourcentage entre parenthèses

TABLEAU VIII  
Effet de l'emploi de deux types de membrane sur le comportement de piqûre de 3 espèces de glossines âgées de 25 - 45 j.

	Avec microperforations			Sans microperforations		
	G.t.	G.p.g.	G.m.m.	G.t.	G.p.g.	G.m.m.
Cage avec membrane	3/23	0/28	6/24	0/26	0/26	0/29
	(13,04)	(0,00)	(25,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)
Sans membrane	20/23	26/28	18/18	25/26	26/26	25/29
	(86,96)	(92,85)	(100,00)	(96,15)	(100,0)	(86,21)

G.t. = *G. tachinoides* ; G.p.g. = *G. palpalis gambiensis* ; G.m.m. = *G. morsitans morsitans*.

\* Pourcentage entre parenthèses.

## DISCUSSION

Cette étude a pour objectif de mieux comprendre les mécanismes de sondage des glossines pour essayer de les mettre à profit et éventuellement les stimuler en vue de faciliter la récolte des trypanosomes sur un support artificiel, facile à examiner. Les métatrypanosomes infectants pour les mammifères se situent en fin de cycle dans la salive de l'hypopharynx. Celle-ci constitue le véhicule de l'agent pathogène et représente un milieu assez facile à examiner par les techniques parasitologiques et moins sujet à des réactions atypiques pour l'application de la PCR (15) du fait de l'absence d'éléments sanguins.

La technique de salivation sur lame est artificielle. Burt (2) travaillant avec *G. morsitans* infectée par *T. b. rhodesiense* stimule la glossine en lui présentant un cobaye, puis la lame chaude, sur laquelle il met de l'albumine d'œuf pour obtenir une meilleure coloration de la salive et des trypanosomes. Dans notre étude, l'insecte est mis directement au contact d'un objet inerte (lame de verre) auquel est associée la chaleur (37-38°C) qui est le seul facteur de stimulation. Or, des études électrophysiologiques récentes révèlent la présence chez *G. f. fuscipes* d'une paire de thermorécepteurs sur les 3e, 4e et 5e tarsomères (25). Ce sont probablement eux qui sont stimulés dans cette expérience.

Des chimiorécepteurs gustatifs ont été également décrits sur la face ventrale des derniers tarsomères (5) et Van der Goes van Naters et Rinkes (25) montrent leur réceptivité à la sueur humaine et à certains de ses constituants chez *G. f. fuscipes*. Elle induit le réflexe de piqûre chez cette espèce, ce qui ne semble pas le cas dans les observations de Dethier (7) sur *G. palpalis*, *G. brevipalpis* et *G. morsitans*, indiquant des différences entre espèces.

De même, dans l'expérience présente, les espèces ou sous-espèces testées ne répondent pas de la même façon au support sec et, concernant *G. m. morsitans*, aux deux types de supports (sec et liquide) offerts pendant la durée d'observation (5 min) de chaque individu. Mais les auteurs précédents (25) suggèrent que la stimulation sensorielle des chimiorécepteurs tarsaux pourrait être en relation avec celle d'autres organes du goût, par exemple ceux du proboscis.

*G. m. morsitans* est de loin la glossine la plus apte à être stimulée en fréquence et en rapidité à la présentation de la lame chauffée par rapport aux deux autres espèces du groupe *palpalis*. Ceci est probablement à rapprocher de sa grande agressivité ou "disponibilité", bien connue sur le terrain, par rapport aux autres espèces (20).

Toutefois, on constate que le réflexe de sondage/piqûre est fortement modulé par d'autres facteurs, dont au moins le sexe, l'âge et la durée du jeûne.

Les mâles de *G. m. morsitans* et de *G. palpalis gambiensis* sont beaucoup plus actifs que les femelles et c'est l'inverse pour *G. tachinoides* sans que l'on trouve d'explication, d'autant que ce constat se retrouve quels que soient l'âge et la durée du jeûne (jusqu'à 72 heures).

Les deux groupes d'âges retenus ici sont les ténérales et les non-ténérales. Chez les trois espèces de glossines, les ténérales se montrent beaucoup plus actives vis-à-vis de la lame chauffée que les non-ténérales. Ceci est à mettre en relation avec leurs faibles réserves graisseuses, cet état les rendant plus réceptives aux stimuli (23). C'est également le cas des mâles qui sont plus actifs que les femelles. Leur plus faible réserve graisseuse les rend probablement plus sensibles à la sollicitation de piquer. Randolph et Rogers (23) concluent que le comportement alimentaire s'accroît avec la baisse du niveau de la graisse pendant le cycle trophique qui est de 3-4 jours chez *G. m. morsitans*. Brady (1) montre également que la réponse de *G. m. morsitans* à des objets en mouvements s'accroît avec le jeûne et que les glossines ténérales le font plus que les glossines non ténérales.

Jusqu'au délai de 72 heures, il apparaît en effet très nettement que l'allongement de la durée du jeûne se traduit par un accroissement de la réponse de piqûre pour toutes les espèces et pour les deux sexes. Les mâles de *G. m. morsitans* et ceux de *G. palpalis gambiensis* sont plus précoces en réponse que les femelles, mais les femelles de *G. tachinoides* le sont plus que les mâles.

Den Otter *et al.* (6) montrent que les réponses électroantennographiques à des stimuli de divers composés olfactifs baissent avec l'âge, que les mâles répondent davantage que les femelles et que la durée du jeûne accroît les réponses de *G. m. morsitans* et de *G. tachinoides*.

Youdeowei (26) trouve également que la durée de jeûne de 48 h chez *G. m. morsitans* est celle engendrant le maximum de sondages en une minute et Laveissière (11) remarque que, dans la nature, en saison froide, en saison chaude et en saison des pluies, les femelles de *G. tachinoides* prennent leur premier repas beaucoup plus tôt que les mâles, en liaison, selon l'auteur, avec l'ovogenèse.

Jenni *et al.* (10) indiquent que *G. m. morsitans* infectée par *T. b. brucei* pique la souris plus fréquemment et avec une plus grande intensité que des glossines non infectées du fait d'une perturbation des mécanorécepteurs du labre et d'une obstruction de l'hypopharynx par les trypanosomes.

Mais Moloo et Dar (18), Moloo *et al.* (19), Makumi et Moloo (14) et Chiguza et Otieno (4) n'observent aucun effet de l'infection trypanosomienne sur le comportement de sondage et la quantité de sang ingérée chez les glossines infectées par rapport aux glossines saines.

L'observation faite ici du comportement sur lame chauffée ne montre pas une plus grande activité des individus infectés. Alors que les mâles ne se différencient pas

entre eux, les femelles non infectées sondent significativement davantage que les glossines infectées, ce qui indique que, au laboratoire, l'infection trypanosomienne n'exacerbe pas le comportement de sondage comme l'ont suggéré certains auteurs (10), mais l'abaisserait plutôt, au moins chez les femelles.

L'emploi d'un support liquide (PSG ou sang hépariné) améliore le pourcentage de glossines qui sondent, probablement par stimulation des organes récepteurs du proboscis. A cet avantage s'ajoute celui de permettre une recherche plus facile des trypanosomes émis dans le salivat (durée plus longue de mobilité des trypanosomes). La détection apparaît cependant meilleure avec le PSG (absence d'éléments figurés) tout en simplifiant la manipulation, le sang nécessitant un prélèvement et l'adjonction d'héparine.

La membrane synthétique utilisée n'a pu être facilement traversée par les glossines. L'objectif était de stimuler la salivation par la pénétration d'un support comme l'avait constaté Youdeowei (26) en faisant piquer *G. morsitans* à travers la membrane alaire d'une chauve-souris, ce qui indique la participation de mécanorécepteurs.

D'autres facteurs, comme l'état de gestation, n'ont pas été abordés pour limiter le nombre de paramètres mais jouent certainement un rôle qui devra être étudié.

## CONCLUSION

La technique de salivation sur lame est ancienne et mérite d'être réhabilitée et améliorée, car elle permet de détecter assez facilement l'état infectant d'une glossine sans passer par l'animal de laboratoire (lapins, souris, moutons) et sans dissection de l'insecte. Ces premiers essais indiquent, qu'au laboratoire, les meilleures réponses de sondage sur lame chaude sont obtenues avec la sous-espèce *G. m. morsitans* de sexe mâle, soumise à un jeûne de 48 à 72 heures. Les données récentes sur les thermorécepteurs et les chimiorécepteurs des glossines doivent permettre d'améliorer fortement le réflexe de sondage et de salivation pour permettre de détecter plus facilement la fraction infectante d'une population de glossines. L'obtention plus facile du salivat et des trypanosomes doit faciliter sur le terrain la recherche parasitologique sur l'insecte vivant et, au laboratoire, une application plus efficace des méthodes de la biologie moléculaire en évitant des interactions indésirables avec des constituants sanguins. Mettant à profit ces premiers éléments sur le comportement de sondage des glossines, l'étude du caractère permanent ou transitoire de l'émission des trypanosomes qui est en cours, doit conduire à évaluer le degré de pérennité du caractère infectant des glossines qui conditionne en partie leur compétence vectorielle.

## Bibliographie

- BRADY J., 1972. The visual responsiveness of the tsetse fly *Glossina morsitans* Westw. (Glossinidae) to moving objects: the effects of hunger, sex, host, odour and stimulus characteristics. *Bull. ent. Res.*, 68: 257-279.
- BURTT E., 1946. Salivation by *Glossina morsitans* on to glass slides: a technique for isolating infected flies. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 40: 141-144.
- BUXTON P.A., 1955. The natural history of tse-tse flies. An account of the biology of *Glossina* (Diptera). London, U.K., H.K. Lewis and Co Ltd., 816 p. (Mémoire No.10)
- CHIGUZA Y., OTIENO L.H., 1988. Longevity and feeding behaviour of *Glossina morsitans morsitans* infected with *Trypanosoma brucei brucei*. *Jap. J. sanit. Zool.*, 39: 71-75.
- D'AMICO F., GEOFFROY B., CUISANCE D., BOSSY J.P., 1993. Sites and abundance of chemoreceptors on the legs of tsetse, *Glossina tachinoides* (Diptera : Glossinidae). *Insect Sci. Applic.*, 13: 781-786.
- DEN OTTER C.J., TCHICAYA T., SCHUTTE A.M., 1991. Effects of age, sex and hunger on the antennal olfactory sensitivity of tsetse flies. *Physiol. Ent.*, 16: 173-182.
- DETHIER V.G., 1954. Notes on the biting of tsetse flies. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 3: 160-171.
- 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.
- HERBERT W.J., LUMSDEN W.H.R., 1976. *Trypanosoma brucei*. A rapid "matching" method for estimating the host's parasitaemia. *Expl Parasit.*, 40: 427-431.
- JENNI L., MOLYNEUX D.H., LIVESEY J.L., GALUN R., 1980. Feeding behaviour of tse-tse flies (*Glossina*) infected with salivarian trypanosomes. *Nature*, 283: 383-385.
- LAVEISSIERE C., 1978. Ecologie de *Glossina tachinoides* Westwood, 1850 en savane humide d'Afrique de l'Ouest. VI. Age de la glossine à son premier repas. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasit.*, 16: 181-187.
- MAJIWA P.A.O., OTIENO L.H., 1990. Recombinant DNA probes reveal simultaneous infection of tsetse flies with different species. *Molec. Biochem. Parasit.*, 40: 245-254.
- 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.
- MAKUMI J.N., MOLOO S.K., 1991. *Trypanosoma vivax* in *Glossina palpalis gambiense* do not appear to affect feeding behaviour, longevity or reproductive performance of the vector. *Med. vet. Ent.*, 5: 35-42.
- 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.
- 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° special) : 186-191.
- MEHLITZ D., TIETJEN U., 1988. Trypanosome infection rates in tsetse midguts using a short-term culture technique. *Acta trop.*, 45: 183-184.
- MOLOO S.K., DAR F., 1985. Probing by *Glossina morsitans centralis* infected with pathogenic *Trypanosoma* species. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 79: 119.

19. MOLOO S.K., MOLYNEUX D.H., LIVESSEY J.L., GALUN R., 1980. Feeding behaviour of tsetse flies infected with salivarian trypanosomes. *Nature*, 283: 383-385.

20. MULLIGAN H.W., POTTS W.H., 1950. The African trypanosomiases. London, U.K., George Allen and Unwin Ltd., 950 p.

21. NITCHEMAN S., JACQUIET P., 1990. Utilisation de souriceaux pour la mise en évidence de l'infectivité des glossines. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 43 (2) : 219-223.

22. OTIENO L.H., 1993. Inadequacy of the dissection method for estimating trypanosome infection rates. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 77: 329-330.

23. RANDOLPH S.E., ROGERS D.J., 1981. Physiological correlates of the availability of *Glossina morsitans centralis* Machado to different sampling methods. *Ecol. Ent.*, 6: 63-77.

24. 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 Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 26 (1) : 27-35.

25. VAN DER GOES VAN NATERS W.M., RINKES T.H.N., 1993. Taste stimuli for tsetse flies on the human skin. *Chem. Senses*, 18: 437-444.

26. YOUDEOWEI A., 1975. A simple technique for observing and collecting the saliva of tsetse flies (Diptera, Glossinidae). *Bull. ent. Res.*, 65: 65-67.

**GIDUDU (A.M.), CUISANCE (D.), REIFENBERG (J.M.), FREZIL (J.L.)**. Improvement of tsetse fly salivation technique for the detection of infective metatrypanosomes: study of the impact of certain biological and non-biological factors on probing behaviour of tsetse flies. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1995, 48 (2) : 153-160

The probing and salivation behaviour on a warm slide of three tsetse fly species or subspecies (*Glossina morsitans morsitans*, *Glossina palpalis gambiensis*, *Glossina tachinoides*) was examined with respect to various parameters (species, sex, age, starvation period, trypanosome infection, quality of support). Each fly was given the opportunity to probe the warm slide (38°C) for 5 minutes (we mean by probing an attempt to touch the glass slide by the proboscis in a biting position). *G. m. morsitans* is by far the most efficient at probing (70.50 %) when compared with *G. tachinoides* (50.50 %) and *G. palpalis gambiensis* (45.80 %). Globally, males (61.30 %) are more active than females (52 %) and those of the *morsitans* group are more active than those of the *palpalis* group. Teneral flies probe more easily than non-teneral flies, with an increased advantage in *G. m. morsitans*. The starvation period increases the probing behaviour, but at 48 h, *G. m. morsitans* probed as much as *G. palpalis gambiensis* and *G. tachinoides* at 72 h. The males of *G. m. morsitans* and *G. palpalis gambiensis* are more precocious than females, but the inverse is observed in *G. tachinoides*. Infection by *T. congolense* (EATRO 325 strain) does not affect the probing behaviour of males of all 3 species but seems to lower that of females in the *palpalis* group. Addition of a drop of PSG or blood improves the probing behaviour of infected *G. m. morsitans* females (the only ones tested). The results are discussed in relation to biological data and knowledge of the receptor systems of tsetse flies.

*Key words:* *Glossina* - Behaviour - Bite - Trypanosomosis.

**GIDUDU (A.M.), CUISANCE (D.), REIFENBERG (J.M.), FREZIL (J.L.)**. Mejoramiento de la técnica de salivación de las glosinas para la detección de meta tripanosomas infectantes : estudio de algunos factores biológicos y no biológicos sobre el comportamiento de sondeo de las glosinas. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1995, 48 (2) : 153-160

Se examinó el comportamiento de sondeo y de salivación sobre lámina caliente de tres especies o sub especies de glosinas (*Glossina morsitans morsitans*, *Glossina palpalis gambiensis*, *Glossina tachinoides*), en función de ciertos parámetros (especie, sexo, edad, duración del ayuno, infección tripanosómica, calidad del soporte). A cada glosina se le permitió sondear una lámina caliente (38°C) durante 5 minutos (el sondeo se entiende como un intento de acercamiento de la lámina por parte de la probócid e en posición de piquete). *G. m. morsitans* mostró ser la más apta al sondeo (70,50 p. 100) en comparación a *G. tachinoides* (50,50 p. 100) y *G. palpalis gambiensis* (48,50 p. 100). Los machos (61,30 p. 100) son globalmente más activos que las hembras (52 p. 100) y los de *G. m. morsitans* mucho más que los del grupo *palpalis*. Las glosinas tenebrales sondean más fácilmente que las no tenebrales, con una ventaja clara de *G. m. morsitans*. La duración del ayuno aumenta los intentos de sondeo, sin embargo, a las 48 h *G. m. morsitans* sondeó lo mismo que *G. palpalis gambiensis* y que *G. tachinoides* a las 72 h. Los machos de *G. m. morsitans* y de *G. palpalis gambiensis* son más precoces que las hembras, inversamente a los observado en *G. tachinoides*. La infección por *T. congolense* (cepa EATRO 325), no afecta el comportamiento de sondeo de los machos de ninguna de las tres especies, pero parece disminuir el de las hembras del grupo *palpalis*. La adición de una gota de PSG o de sangre, mejora el comportamiento de las hembras infectadas con *G. m. morsitans* (que fueron las únicas estudiadas). Se discuten los resultados en función de los datos biológicos y de los conocimientos de los sistemas receptores de las glosinas.

*Palabras clave :* *Glossina* - Comportamiento - Mordedura - Tripanosomosis.