

Bibliothèque
de
I.E.M.V.T.

8602

ACADEMIE DE PARIS

UNIVERSITE PIERRE et MARIE CURIE (PARIS VI)

11/12 85 1095



DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES (D.E.A.)

EN ENTOMOLOGIE

OPTION : ENTOMOLOGIE MEDICALE ET VETERINAIRE

Sensibilité à la deltaméthrine des Glossines
(Glossina morsitans morsitans) infectées et
non infectées par les trypanosomes
(Trypanosoma congolense) et influence de ce
pyréthrinoïde, appliqué à faible dose, sur
le cycle des trypanosomes dans la mouche.

Par SALIFOU NITCHEMAN

Stage effectué au laboratoire d'entomologie

I.E.M.V.T. Maisons-Alfort

Septembre 1985

8602

Corrections (errata)

D.E.A d'entomologie-septembre 1985 (par S. NITCHEMAN)

- 1) Page 2 : (ligne 16) lire Wilenberg.
- 2) Page 13 : (fin de la ligne 12) : ----- des pages 15, 16, 17, 18 et 19.
- 3) Page 14 : (avant-dernière ligne) : lire ----- la sensibilité ----
- 4) Page 16 : (ligne 1) : lire ----- la deltaméthrine -----
- 5) Page 25 : (légendes) : lire - I=q (femelles) infectées
NI=q (femelles) non infectées
- 6) Page 29 : (fin de la ligne 11) : lire les courbes demeurent parallèles.
- 7) Page 30 : (ligne 7 à partir du bas) : ----- alors plus sensible.
- 8) Page 35 : (bibliographie) : 8 - (ligne 3) : G. tachinoïdes.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

I	INTRODUCTION	p. 1
II	MATERIEL ET METHODE	p. 2
	1) Glossines	
	2) Trypanosomes	
	3) Lapins	
	4) Matériel pour test insecticide	p. 3
	a) application topique	
	b) tubes normalisés O.M.S. d'observation	
	c) salivation	p. 4
	5) Insecticide	
	- synonymie	
	- nom chimique	
	- solutions	p. 5
	6) Test	
	a) test préliminaire	
	b) protocole expérimental	
III	RESULTATS	p. 13
	1) Test préliminaire	
	2) Sensibilité à la deltaméthrine des glossines infectées et des glossines non infectées	p. 21
	a) Effet knock-down	
	b) Mortalité	
	- A 48 H	
	- A 20 jours	p. 22
	3) Influence de la deltaméthrine, appliquée à faible dose, sur le cycle de <u>Trypanosoma congolense</u> chez <u>Glossina morsitans morsitans</u>	

IV DISCUSSION	p. 28
---------------------	-------

1) Différence entre les résultats des tests préliminaires et des tests proprement dits	
2) Sensibilité des glossines infectées et des glossines non infectées	
a) Témoins	
b) Mouches traitées	
- effet knock-down	
- mortalité	
3) Influence du décis sur le cycle de <u>T. congolense</u> chez <u>Glossina m. morsitans</u>	p. 30

V CONCLUSION	p. 34
--------------------	-------

BIBLIOGRAPHIE	p. 35
---------------------	-------

REMERCIEMENT S

Ce modeste travail est un rapport de stage du DEA d'entomologie qui conditionne l'obtention définitive de ce diplôme.

Nous ne saurions aborder cet exposé sans adresser nos vifs remerciements à toutes les personnes qui ont participé à l'enseignement de l'entomologie de cette année universitaire.

Nous remercions tout particulièrement :

- Mr Jean COZ dont les encouragements et les conseils judicieux nous ont toujours été utiles.
- Mr Albert CHALLIER qui nous a fait largement profiter de son expérience en nous guidant avec beaucoup d'intérêt et de sympathie du début jusqu'à la fin de ce travail.
- Dr Jacques ITARD qui nous a accueilli à bras ouverts dans le laboratoire d'entomologie de l'IEMVT et qui, malheureusement nous a été ravi par la retraite.
- Dr Michel CLAIR pour sa sympathie et son soutien constant après le départ du Dr ITARD.
- Tout le personnel du laboratoire d'entomologie de l'I.E.M.V.T. à Maisons-Alfort et de l'O.R.S.T.O.M. à Bondy pour sa collaboration efficace et sa sympathie.

I INTRODUCTION

La deltaméthrine, synthétisée par Eliot et al. (1974) est considérée comme l'un des insecticides les plus puissants de nos jours. A l'instar de la plupart des pyréthrinoïdes de synthèse, elle se caractérise par sa spécificité insecticide, sa remanence et sa faible toxicité pour les vertébrés.

Des travaux antérieurs ont montré que les glossines (Glossina morsitans morsitans) infectées par les trypanosomes (Trypanosoma brucei) sont plus sensibles à l'endosulfan (Golder et al. 1982) et à l'extrait naturel de pyrèthre (infection à T. congolense) (Golder et al. 1984) que les glossines non infectées.

Nous nous proposons dans notre travail de savoir si Glossina m. morsitans infectée par T. congolense est plus sensible à la deltaméthrine que G. m. morsitans non infectée et si l'insecticide, à faible dose, a une influence sur le cycle du parasite dans le vecteur.

L'application topique de gouttes d'insecticide en solution dans un mélange à parties égales d'alcool éthylique et d'acétone sur la paroi dorsale du thorax a été utilisée. Les mouches survivantes après vingt jours d'observation sont disséquées pour contrôler les différents stades du cycle du parasite de l'intestin moyen à l'hypopharynx.

II MATERIEL ET METHODE

1) Glossines

Nous avons travaillé sur Glossina (Glossina s. str.) morsitans morsitans Westwood, 1950, l'un des vecteurs majeurs des trypanosomoses bovines et également humaine à Trypanosoma brucei rhodesiense en Afrique de l'Est et une partie de l'Afrique centrale (Photo 1 page 7).

Les expériences ont été réalisées avec des individus provenant de l'élevage du laboratoire d'entomologie de l'I.E.M.V.T. à Maisons-Alfort à partir de pupes. Les adultes sont nourries tous les jours dès leur éclosion à l'exception du dimanche, exclusivement sur oreilles de lapins.

2) Trypanosomes

Il s'agit de Trypanosoma (Nannomonas) congolense qui "est probablement le trypanosome africain ayant la plus grande incidence économique" (Itard, 1981). Il appartient à la souche E.A.T.R.O. 325 provenant d'un stabulat de l'E.A.T.R.O. (East Africa Trypanosomiasis Research Organization) et envoyée par Mr Wilerberg (à partir de sang de souris) au Dr Itard (Photo 2 page 8).

Cette espèce de trypanosome a l'inconvénient de présenter un temps d'incubation assez long chez nos lapins d'expérience ; après l'inoculation la parasitémie n'est satisfaisante pour notre expérience qu'à partir de deux semaines au moins.

3) Lapins

Nous disposons de quatre lapins de race bouscat : un régulièrement infesté sert à nourrir les mouches à infecter, un autre nourrit les glossines non infectées ; un troisième reçoit les glossines infectées et traitées ; le quatrième est aussitôt inoculé lorsque le premier est traité.

Les lapins sont immobilisés dans des boîtes de contention comportant des ailerons sur lesquels sont disposés des coussins. Les cages contenant les mouches sont fixées sur la face dorsale des oreilles reposant sur les coussins pendant environ cinq minutes (Photo 3 page 8).

Les lapins sont examinés chaque jour pour apprécier leur état de santé et surtout leur niveau de parasitémie chez le lapin inoculé. L'inoculation des trypanosomes et la prise de sang pour examen se font au niveau de la veine marginale de l'oreille. Le sang prélevé dans des tubes à hématocrite héparinés (75 mm de long et 0,5 mm de diamètre) est soumis à une centrifugation (10.000 tours/mn en 3 mn) pour permettre une concen-

tration des parasites dans l'interface globules blancs-plasma.

La section du tube contenant les trypanosomes est isolée, vidée sur une lame puis recouverte d'une lamelle et soumise à l'observation au microscope à contraste de phase (ocx 10, obj x 40). Les trypanosomes sont comptés par champ et nous faisons la ² moyenne de 20 champs pour avoir une idée du niveau de parasitémie avant de nourrir les glossines à infecter sur le lapin positif. La parasitémie des lapins utilisés pour les mouches infectées a varié de 2,7 à 19,3 trypanosomes par champ ; elle fluctue du jour au lendemain.

La lecture de l'hématocrite (rapport en p 100 du volume des hématies par rapport au volume total de sang) fournit une indication sur l'état général du lapin et permet de traiter ce dernier en temps voulu au trypanidum ou au bérénil ; le traitement intervient lorsque l'hématocrite descend en dessous de 20 p 100, la normale est d'au moins 35 p 100 chez le lapin.

4) Matériel pour test insecticide

a) Application topique

Nous avons utilisé deux sortes d'applicateurs pour des raisons de disponibilité.

- Applicateurs capillaires calibrés OMS à autocharge comprenant un tube capillaire de 0,36 μ l inséré dans un bouchon de caoutchouc à l'intérieur d'un tube porte-capillaire en verre (de 14 cm de long et 6 mm de diamètre), un tube de caoutchouc muni d'un embout en matière plastique, une bague de caoutchouc à ajuster sur le porte-tube capillaire (Photo 4 page 10) et schémaIB page 9).

- Applicateurs capillaires à autocharge composé d'un tube capillaire de 1 μ l, inséré dans une bague de caoutchouc, à l'intérieur d'un porte-tube capillaire en verre, coiffé d'un bouchon en caoutchouc avec un orifice à air (schémaIA page 9 et photo 5 page 10).

b) Tubes normalisés (standard) OMS d'observation (photo 6 page 11).

Après le traitement, les glossines sont mises en observation pendant 48 H dans ces tubes, puis les survivantes sont transférées dans des cages adaptées pour la prise des repas de sang et le reste des opérations.

c) Salivation

Il existe plusieurs méthodes pour faire saliver les glossines (Burt 1946 ; Youdeouvei 1975, 1976), mais nous avons adopté une méthode simple suggérée par le Dr Itard : une mouche affamée (à jeun pendant 48 H environ) est emprisonnée dans un tube d'environ 7 cm de long et 3 cm de diamètre emballé de papier carbone à l'exception du bord inférieur renversé, en contact avec une lame posée dans la paume de la main (schéma II p.12). Quelques instants après, la température de la lame s'élève, la mouche tente alors d'atteindre la main à travers la lame et ainsi la salive se répand sur celle-ci. La coloration au giemsa révèle des trypanosomes de diverses formes ; cela, à partir de la 2e ou la 3e semaine après le repas infectant, permet d'isoler les individus sûrement infectés des non infectés. Malheureusement l'opération doit être répétée plusieurs fois pour décèler certaines mouches infectées ; et le temps d'apparition des trypanosomes dans la salive est assez long, compte tenu du temps dont nous disposons. Nous n'avons donc pas pu l'appliquer systématiquement à tous les lots des mouches infectées.

5) Insecticide

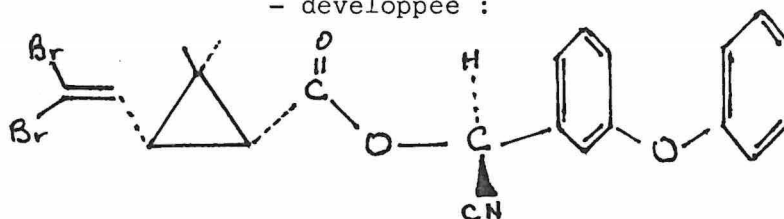
- Synonymie : Décaméthrine, décis, OMS 1998.

- Nom chimique

(S) - α - cyano - m - phenoxybenzyl (1R, 3R) - 3 - (2,2-dibromovinyl) - 2,2 - dimethylcyclopropane carboxylate.

Formule : - brute : $C_{22} H_{19} Br_2 NO_3$

- développée :



(Roussel - UCLAF - 1982)

L'effet puissant de ce composé se manifeste chez les insectes par une perte de motricité (paralysie générale) ou effet knock-down dans 30 minutes à 3 heures après le traitement, précédée d'une phase d'agitation intense et brève selon la dose ; puis suit la mort (killing) ou le réveil. Une mort tardive peut survenir plusieurs heures après le réveil.

- Solutions

Le produit technique (poudre) est dilué dans un mélange à parts égales d'alcool éthylique et d'acétone. A partir de la solution-mère obtenue, nous préparons les dilutions successives des solutions filles qui varient selon une progression géométrique de raison 2 : 1 ng ; 0, 5 ng ; 0, 25 ng ; 0,125 ng ; 0,0625 ng et 0,03125 ng. Mais des solutions intermédiaires (0,100 et 0,08 ng) ont dû être utilisées par la suite pour adapter le taux de mortalité aux exigences de l'expérience (période d'observation de 20 jours).

Les solutions filles sont conservées en chambre froide ou au réfrigérateur dans des flacons hermétiques ; deux à trois semaines plus tard, elles sont remplacées par de nouvelles solutions.

6) Test

Des épreuves préliminaires nous ont permis d'obtenir l'ordre de grandeur des DL_{50} à 24 H et 48 H, puis des "knock-down - 50" à 1 H, 3 H et 6 H pour le reste des opérations, puisqu'il fallait garder des mouches.

a) Test préliminaire

Aussitôt après l'éclosion en salle d'élevage (température : 25°C, humidité relative : 80 p 100), les femelles sont mises par lots de 10 dans des cages et sont nourries. Le quatrième jour après le repas, elles sont mises en présence de mâles de sept jours pour s'accoupler ; le lendemain elles sont nourries et testées à jeun le surlendemain.

Le mélange mâles femelles est anesthésié au CO_2 afin de séparer les femelles qui sont réparties dans les groupes expérimentaux par tirage à l'aide d'une table de nombres aléatoires, cela évite les biais de l'échantillonnage. Après le test, les femelles sont mises dans des tubes d'observation normalisés O.M.S. où elles se réveillent quelques minutes plus tard, très agitées. Nous relevons le nombre de mouches tombées au fond du tube après 1 H, 3 H et 6 H (effet knock-down) et les mortalités réelles 24 et 48 H après. A chaque série de tests est joint un lot témoin traité au mélange alcool-acétone.

b) Protocole expérimental

Ce protocole est résumé sous la forme du tableau ci-dessous :

Glossines ♀ : éclosion

Glossines
non infectées (NI)

Repas normal
(RN)
(Lapin sain)

Repas infectant
(RI)
(Lapin infesté)

Repas N.

Repas I

Repas N.

Repas I

Accouplement

Accouplement

Repas N.

Repas I

P A S D E R E P A S

ANESTHESIE AU CO₂

T E S T

I N S E C T I C I D E

Observation knock-down

TU
BES

1 H, 3 H, 6 H

OMS

P A S D E R E P A S

J 7 - J 8

Mortalité 24 et 48 H

J 9 - J 20

REPAS NORMAL

CA
GE

J 20

DEBUT DISSECTION

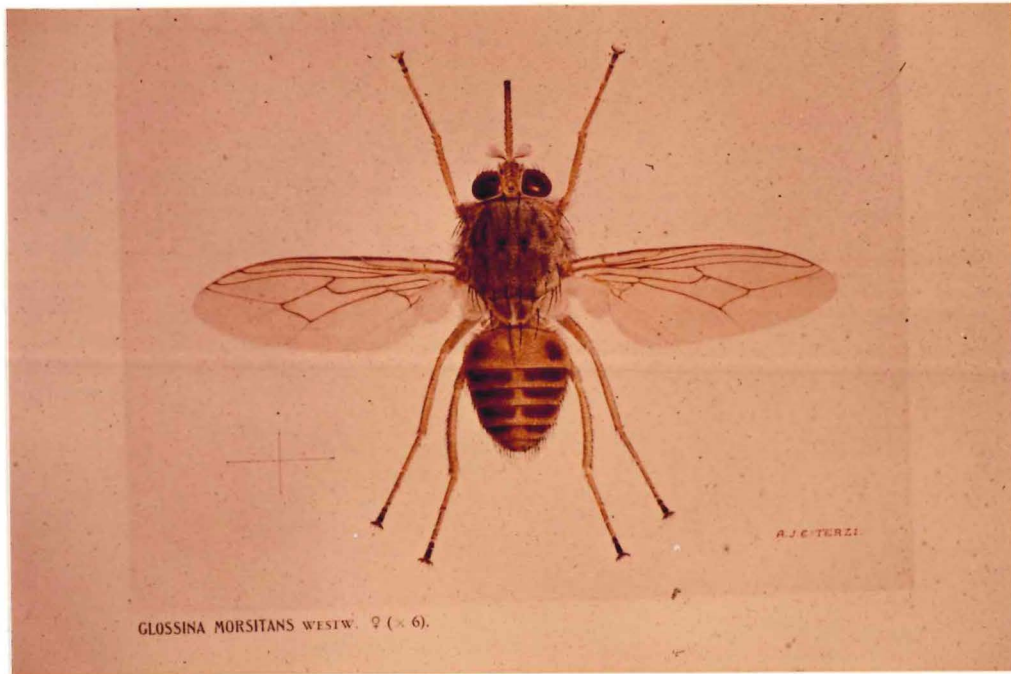


PHOTO N° 1 : GLOSSINA MORSITANS MORSITANS

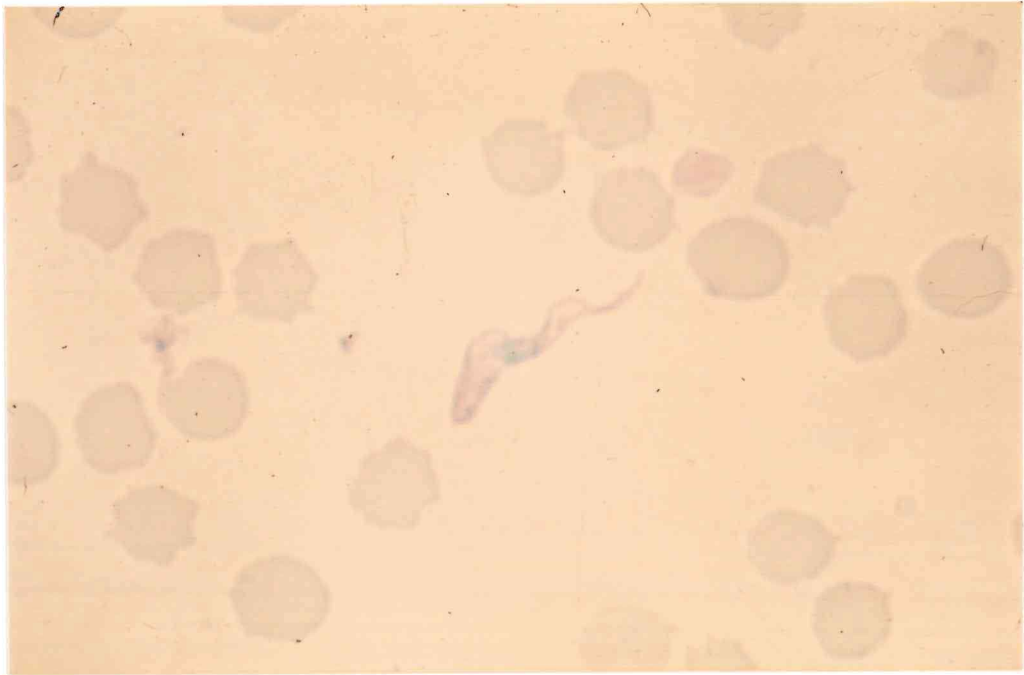


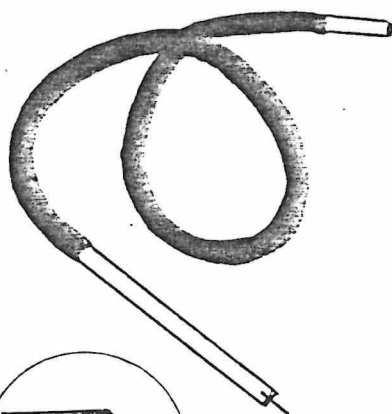
PHOTO N° 2 : TRYPANOSOMA CONGOLENSE (forme sanguine)



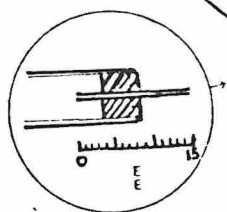
PHOTO N° 3 : LAPINS nourrissant des glossines contenues dans deux cages.



A



B



SCHEMA I: TROUSSE STANDARD OMS

A : Applicateur capillaire à autocharge de 1 μ l

B : Applicateur capillaire de 0,36 μ l

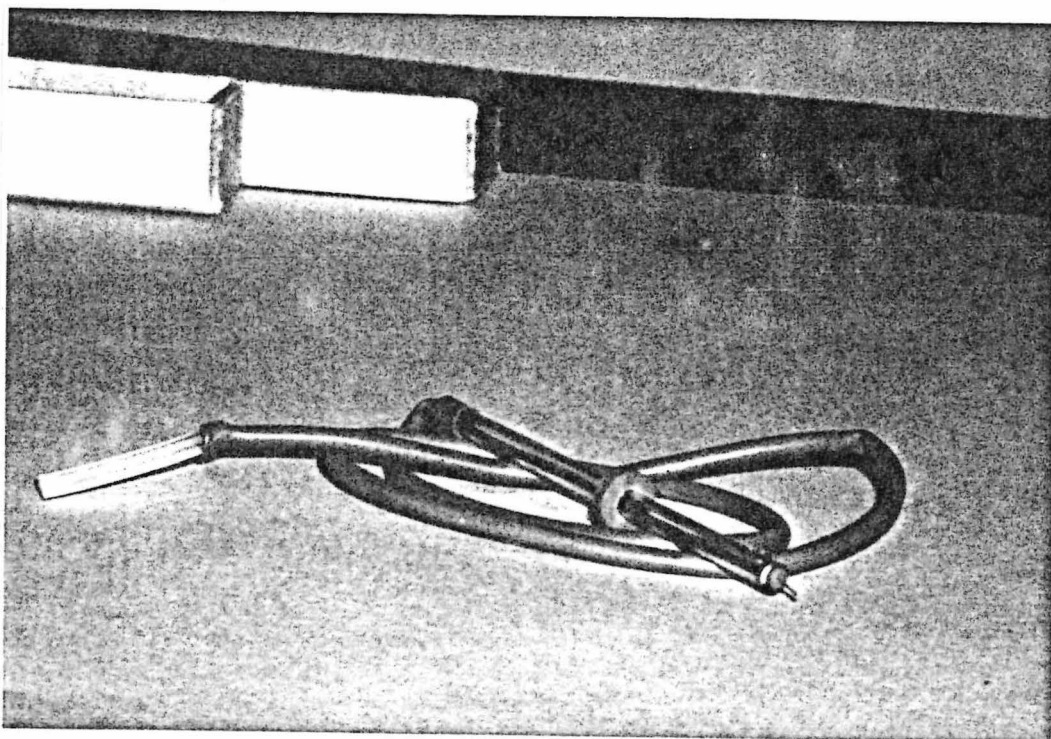


PHOTO n°4: Applicateur capillaire à autocharge de 0,36 μ l

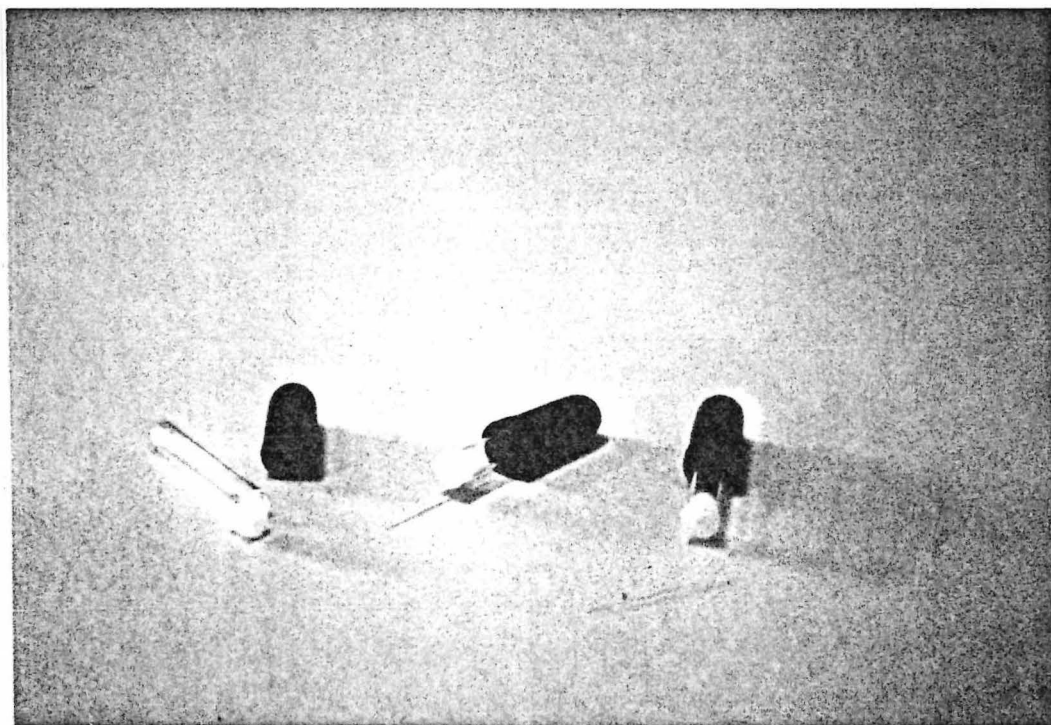


PHOTO n° 5 : Applicateur capillaire à autocharge de 1 μ l

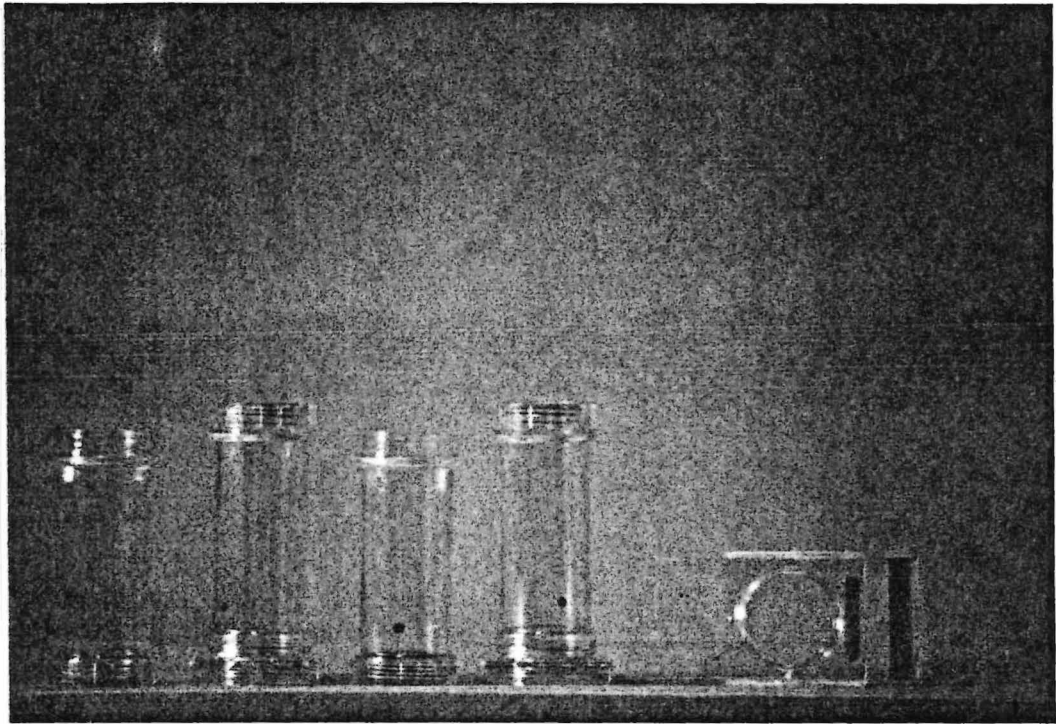
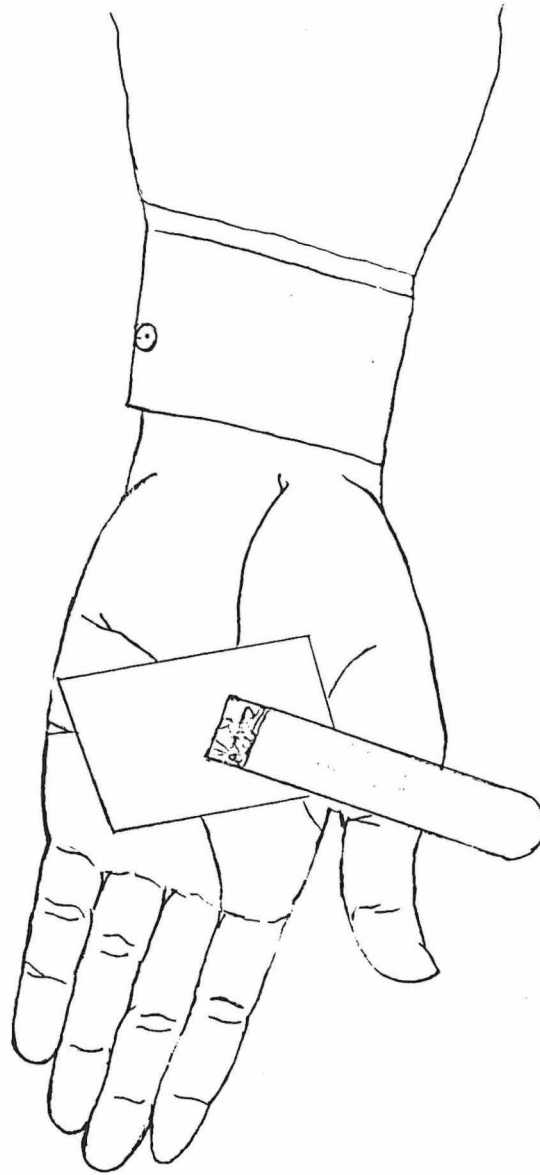


PHOTO n° 6 : Tubes normalisés (Standard) O.M.S. d'observation.



SCHEMA II:: SALIVATION : Glossine affamée salivant sur une lame.

III RESULTATS

Mr DEJARDIN, statisticien à l'O.R.S.T.O.M., a utilisé plusieurs méthodes d'analyse sur ordinateur pour étudier l'influence des facteurs dose , infection et temps, mais aucun de ces tests n'a été significatif.

1) Test préliminaire

La mortalité aux différentes doses, ainsi que la paralysie (knock-down) sont présentées dans le tableau I.

Elle n'a pas été corrigée, étant donné que la mortalité des témoins est inférieure à 5 p 100. Cependant dans les calculs, l'ordinateur corrige automatiquement quelle que soit la mortalité des témoins. Les DL 50 ainsi calculés sont portés dans le tableau II. Les droites de régression sont représentées par les figures 1, 2, 3, 4 et 5 des pages 15,16,17,18 et 19.

Tableau I : Effet knock-down à 1 H, 3 H, 6 H et mortalité à 24 et 48 H après l'application de l'insecticide.

Doses	Effectif	KNOCK-DOWN			MORTALITE	
		1 H	3 H	6 H	24 H	48 H
Témoin	60	1 (1,66)	2 (3,33)	1 (1,66)	0	0
0,06	60	5 (8,33)	18 (30)	12 (20)	5 (8,33)	8 (13,33)
0,08	60	22 (36,66)	34 (56,66)	21 (35)	7 (11,66)	9 (15)
0,100	60	28 (46,66)	44 (73,33)	35 (58,33)	14 (23,33)	18 (30)
0,125	60	41 (68,33)	58 (96,66)	47 (78,33)	26 (43,33)	28 (46,66)

() : pourcentage entre parenthèse.

TABLEAU II : DL 50 Knock-down et DL 50 mortalité

KNOCK-DOWN			MORTALITE	
1 H	3 H	6 H	24 H	48 H
0,094*	0,071*	0,085*	0,118*	0,112*
0,101 ng	0,076 ng	0,091 ng	0,144 ng	0,138 ng
0,109*	0,081*	0,098*	0,176*	0,171*

* Limites de l'intervalle de confiance.

Le graphique de la figure 6 page 20 montre que l'effet knock-down est à son maximum à 3 H, car le "Knock-down 50" y est le plus bas. Quant à la mortalité, la sensibilité semble augmenter légèrement de 24 à 48 H.

Figure 1 : Action de la deltaméthrine 1h après application topique sur des femelles de Glossina morsitans morsitans accouplées (droite de régression).

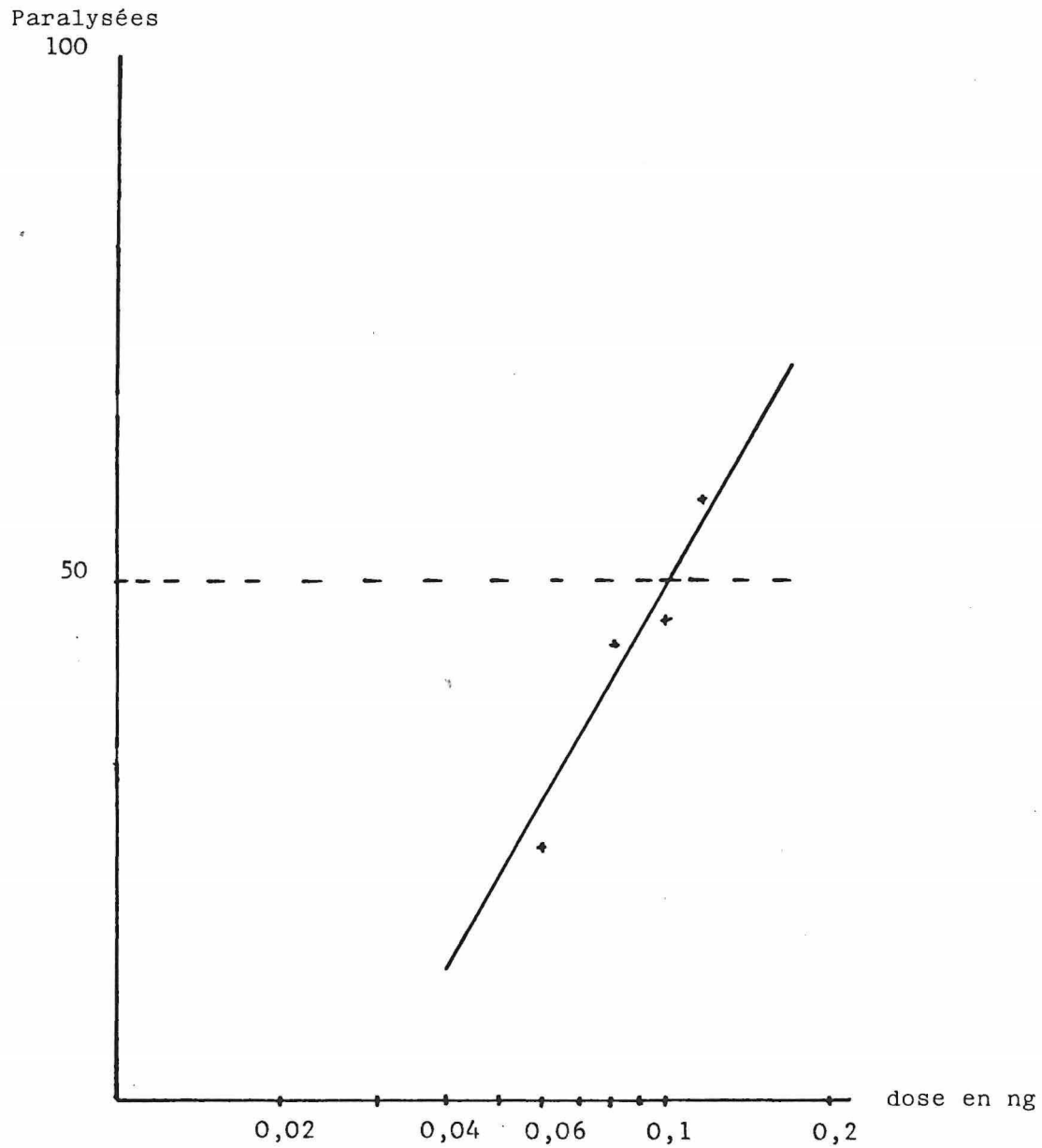


Figure 2 : Action de la delaméthrine 3h après application topique sur des femelles accouplées de Glossina morsitans morsitans (droite de régression).

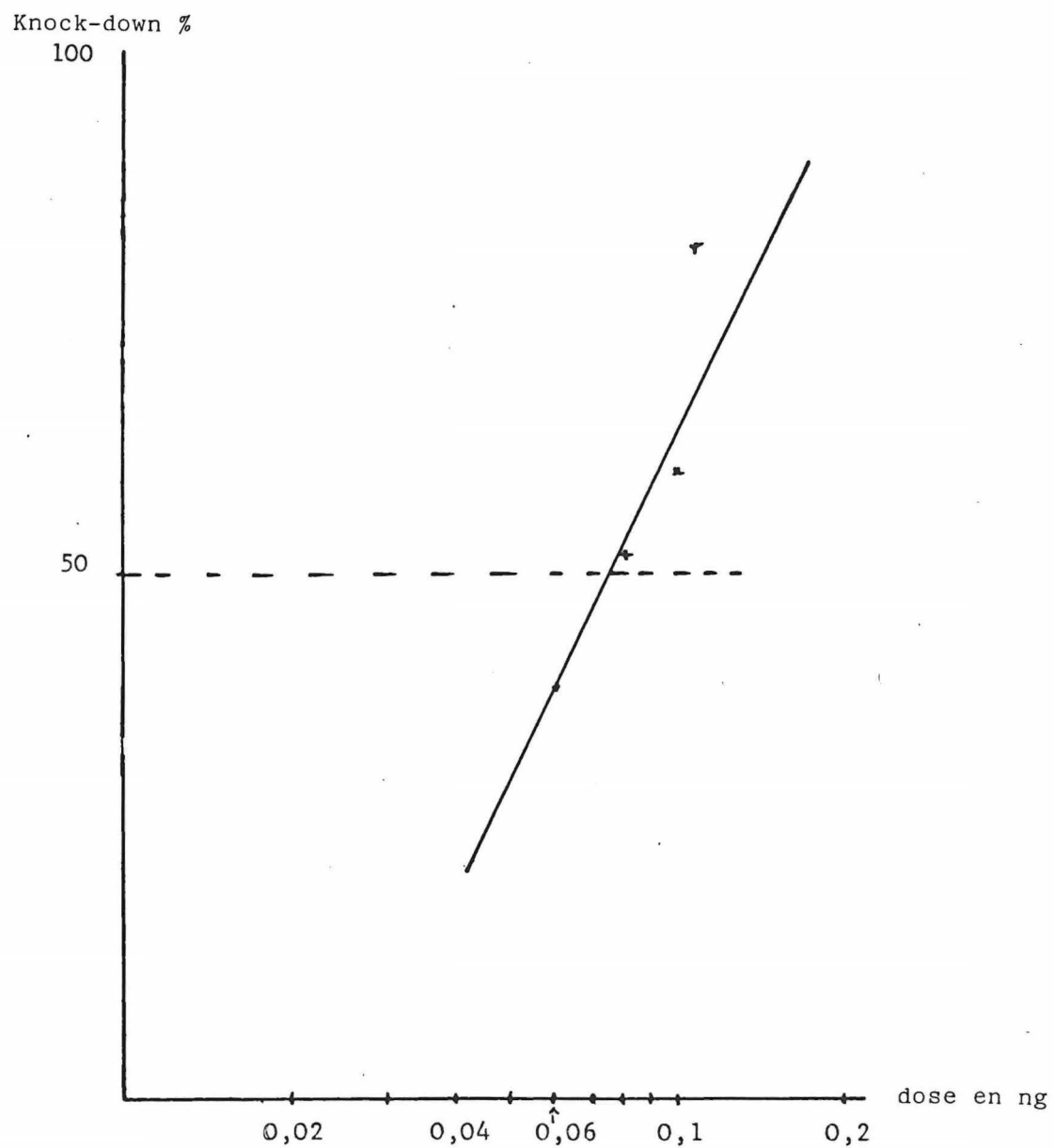


Figure 3 : Action de la deltaméthrine 6h après application topique sur des femelles accouplées de Glossina morsitans morsitans (droite de régression).

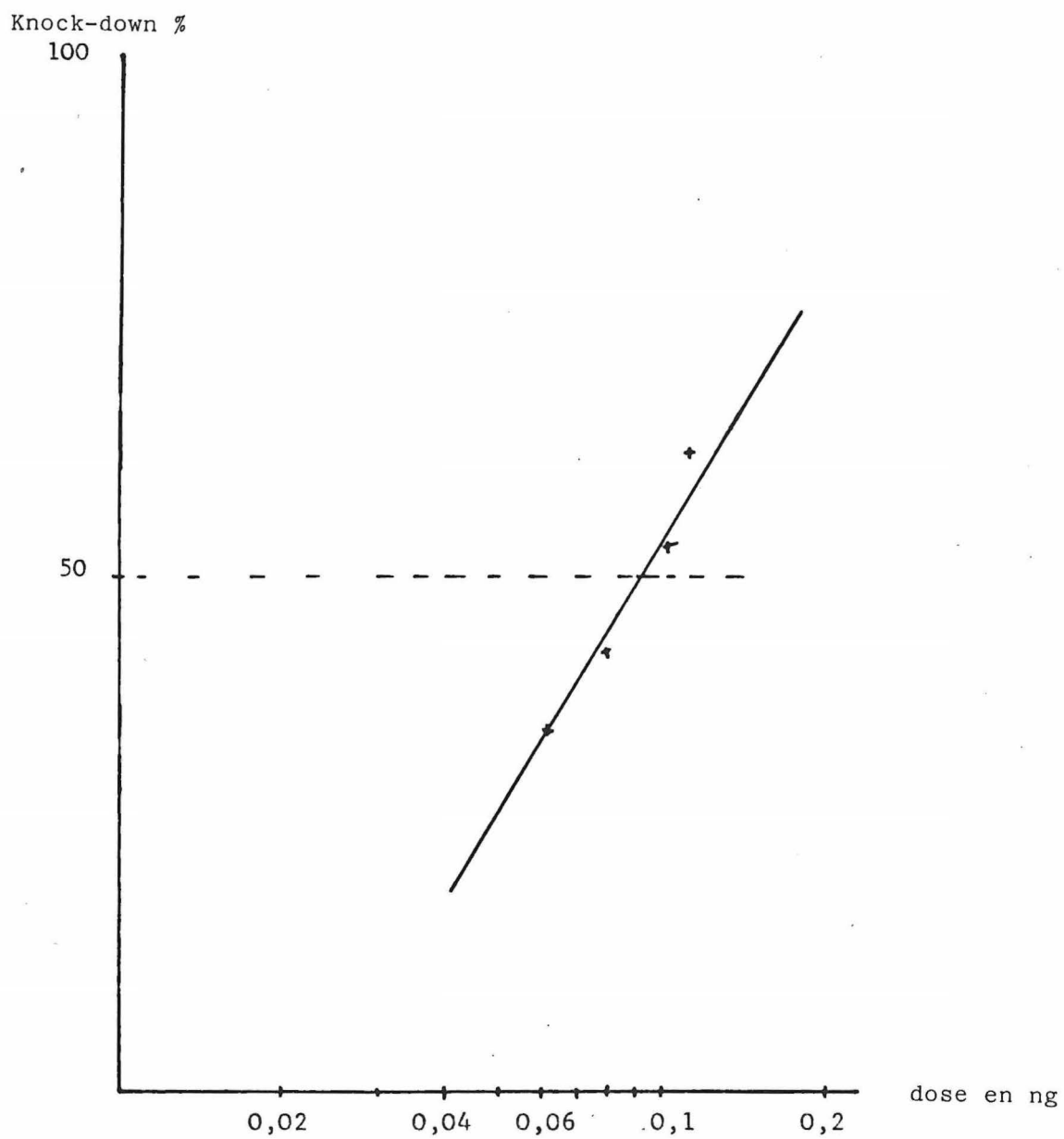


Figure 4 : Action de la deltaméthrine sur des femelles accouplées de Glossina morsitans morsitans (droite de régression) 24h après application topique.

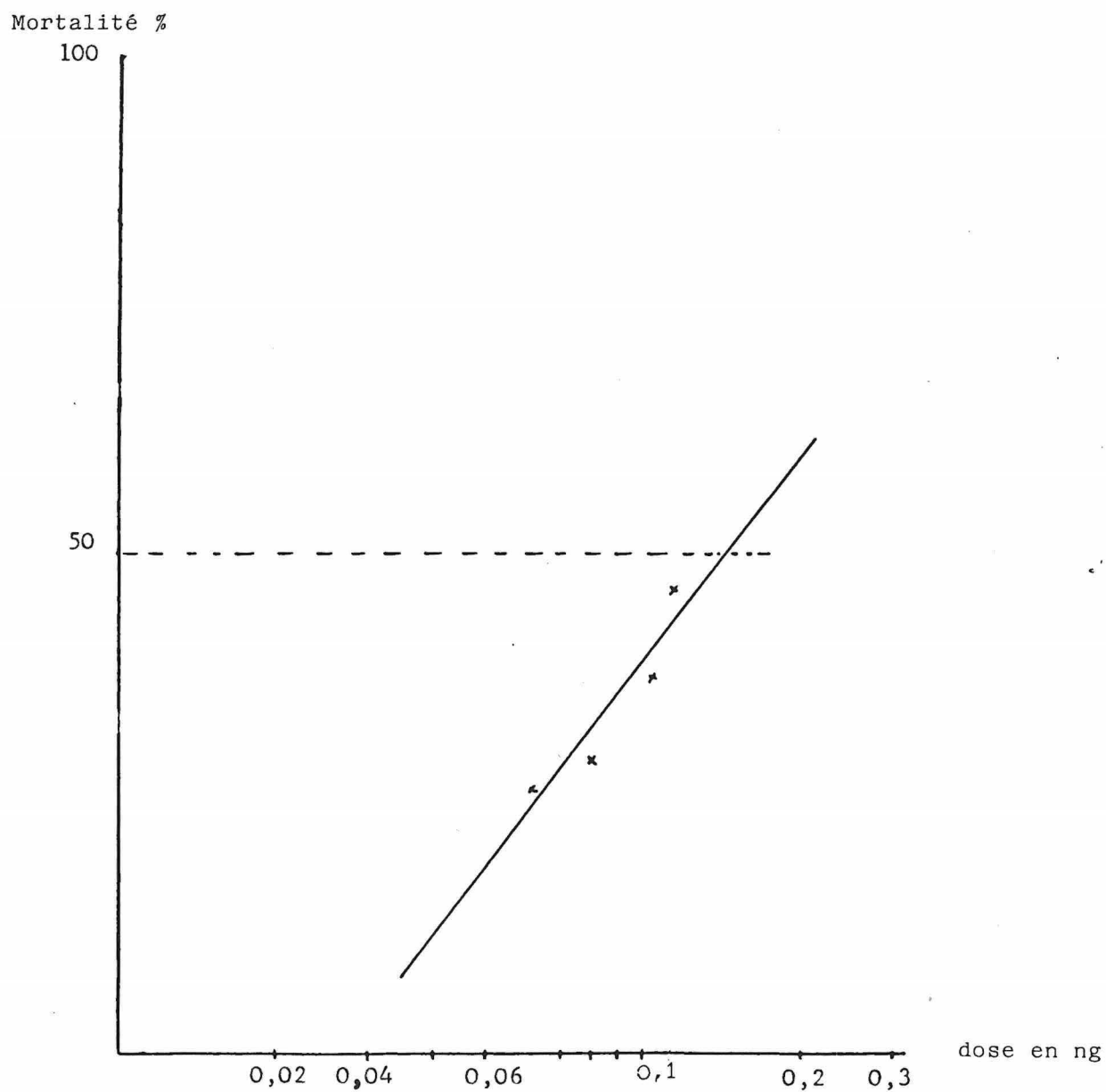


Figure 5 : Action de la deltaméthrine sur des femelles de Glossina morsitans morsitans 48 h après application topique (droite de régression).

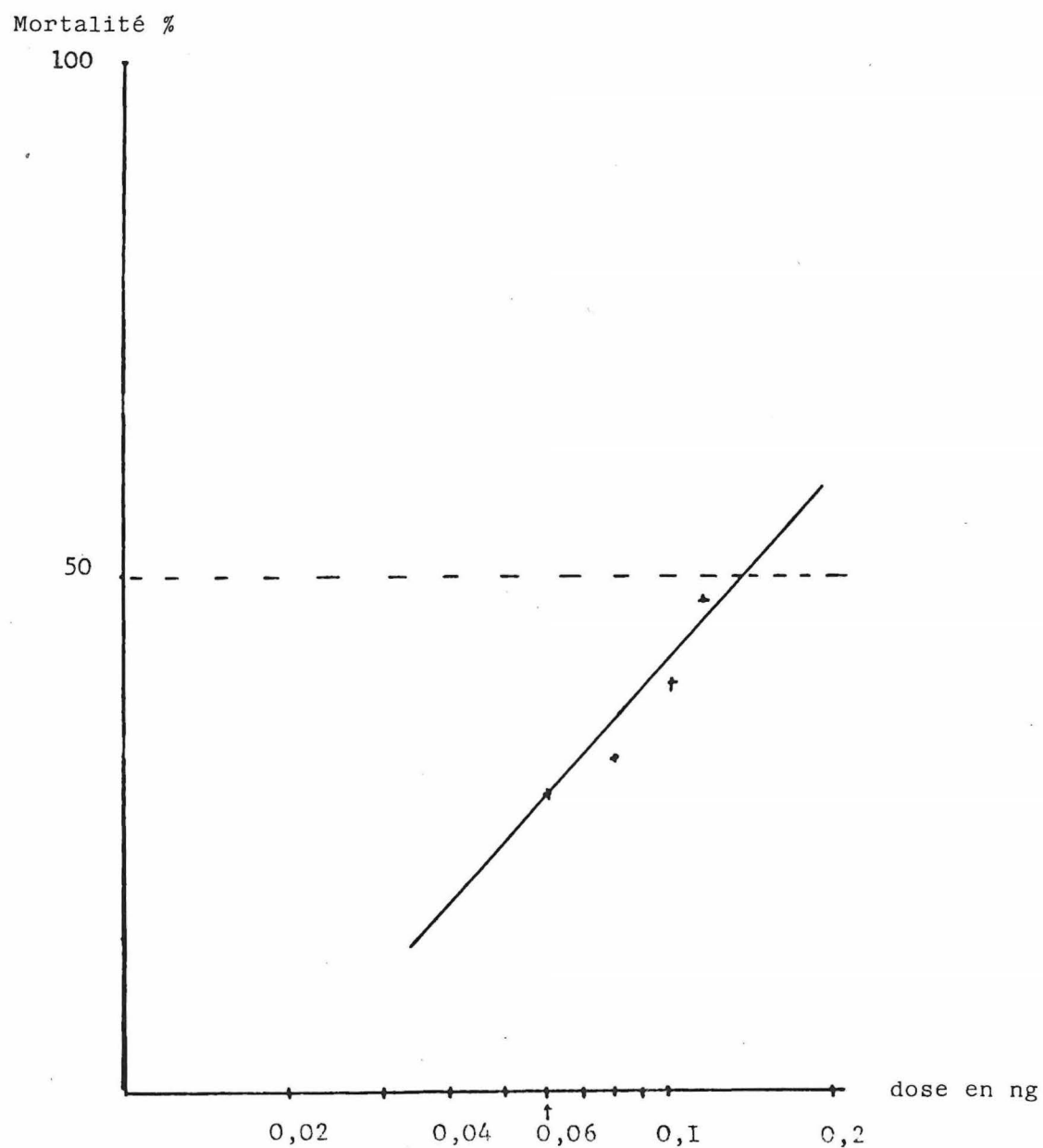
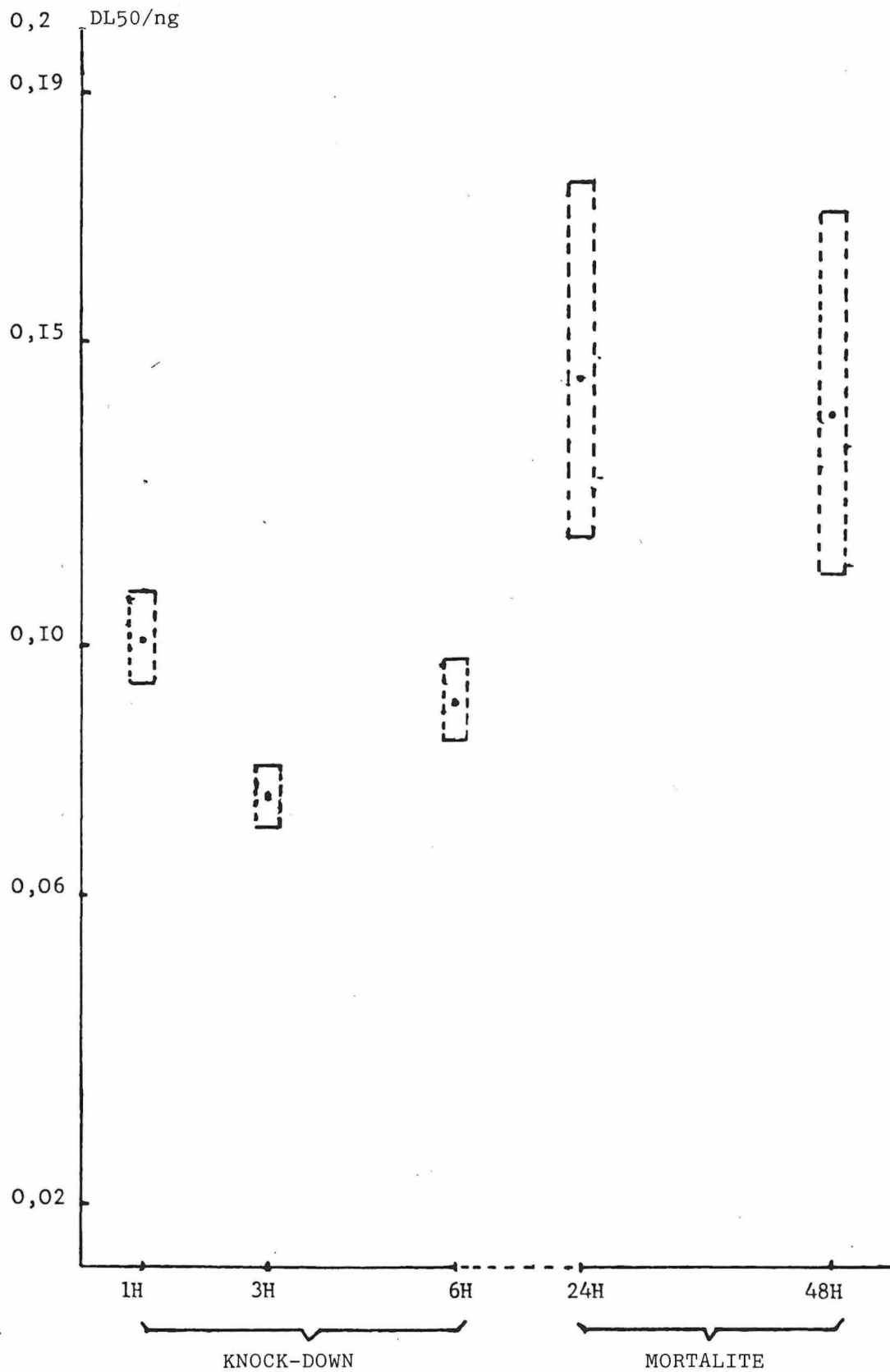


Figure 6 : Evolution de la DL50 de l'effet knock-down et de la mortalité



2) Sensibilité à la deltaméthrine des glossines infectées et des glossines non infectées

Le nombre de mouches disponibles pour chaque test lorsque le lapin infesté est positif n'est pas toujours suffisant. Cela nous contraint à n'utiliser que trois doses d'insecticide (0,06 ; 0,100 et 0,125 ng) en plus du lot témoin. Ces doses se trouvent en dessous de la DL 50 pour qu'il reste assez de mouches survivantes pour la suite de l'expérience.

Les tableaux III et IV page 23 montrent les effets knock-down et les mortalités chez les glossines infectées par Trypanosoma congolense et chez les glossines saines.

Les différents graphiques (figures 7, 8, 9 et 10 des pages 24,25,26 et 27, exposent l'évolution de l'effet knock-down à 1 H, 3 H, 6 H après le traitement ainsi que celle de la mortalité chez les mouches infectées et chez les non infectées à chaque dose, de 24 H à 20 jours.

a) l'effet knock-down

La perte de motricité des mouches soumises à l'application topique du décis survient rapidement : quelques minutes après leur réveil de l'anesthésie. Cet effet de choc est déjà important une heure après l'application du pyrothrinolide, comme le montre la figure 7 page 24, il atteint un pic à 3 heures du traitement et diminue par la suite pour atteindre, à 6 heures, presque le même niveau qu'à 3 H. Evidemment, il est d'autant plus élevé que la dose est plus forte.

b) mortalité

- A 48 H

Pour la dose de 0,06 ng, nous avons 6 individus morts sur 70 chez les mouches infectées et 1 sur 70 chez les mouches non infectées. L'analyse du résultat par le test exact de Fisher (Schwartz 1983 et Fisher 1963) montre que la différence entre les deux proportions n'est pas statistiquement significative ; la probabilité est supérieure au seuil critique de 5 p 100 (2 p = 11,5 p 100).

A 0,100 ng, le nombre de mouches mortes est de 9 sur 70 chez les infectées et de 2 chez les non infectées. L'analyse du résultat par le chi deux corrigé de Yates montre que la différence n'est pas significative.

($X_c^2 = 3,54 < X^2$ tabulaire = 3,84 pour ddl = 1 au risque de 5 p 100) ; mais la valeur observée est proche de la valeur tabulaire.

A 0,125 ng, aucune différence significative n'est observée.

- A 20 jours

A 0,06 ng nous relevons 25 mortes sur 70 chez les mouches infectées et 15 sur 70 chez les non infectées : la différence n'est pas significative ($X^2 = 3,5 < X_t^2 = 3,84$ pour ddl = 1,5 p 100 de risque).

A 0,100 ng, il y a 29 mortes chez les mouches infectées et 20 chez les non infectées ($X^2 = 2,54 < X_t^2$ ddl= 1 au risque de 5 p 100) ; il n'y a pas de différence significative.

3) Influence de la deltaméthrine, appliquée à faible dose, sur le cycle de *Trypanosoma congolense* chez *Glossina morsitans morsitans*

Le tableau V indique les pourcentages des mouches positives (réellement infectées) et négatives (non infectées) parmi les survivantes des mouches nominalement infectées.

Parmi les glossines survivantes, les pourcentages des mouches positives semblent décroître du témoin à la plus forte dose. Ceux des mouches négatives semblent croître par contre.

Tableau V : Résultats de la dissection des mouches survivantes après 20 jours d'observation.

DOSES (ng)	Effectif Mouches survivantes	INTESTIN MOYEN		HYPO- PHARYNX	LABRE
		Infectées (+)	Non infectées (-)	Infectées (+)	Infectées (+)
T	67	48 (71,64)	19 (28,36)	39 (81,25)	43 (89,58)
0,06	45	30 (66,66)	15 (33,33)	25 (83,33)	29 (96,66)
0,100	41	24 (58,53)	17 (41,46)	20 (83,33)	22 (91,16)
0,125	29	18 (62,07)	11 (37,93)	15 (83,33)	17 (94,44)

N.B. : pourcentages entre parenthèses.

TABLEAU III : Effet knock-down et mortalité cumulée chez les glossines infectées

DOSES:	KNOCK-DOWN							MORTALITE CUMULEE									
(ng):																	
E:	1 H	3 H	6 H	24 H	48 H	72 H	4 J	6 J	8 J	10 J	12 J	14 J	16 J	18 J	20 J		
T	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3		
70:	O	O	(1,43)	(1,43)	(2,85)	(2,85)	(2,85)	(2,85)	(2,85)	(2,85)	(2,85)	(4,28)	(4,28)	(4,28)	(4,28)		
0,06	28	44	30	3	6	6	6	7	12	17	19	20	23	23	25		
70:	(40)	(62,85)	(42,85)	(4,28)	(8,57)	(8,57)	(8,57)	(10)	(17,14)	(24,28)	(27,14)	(28,57)	(32,85)	(32,85)	(35,75)		
0,100	46	57	48	7	9	13	15	18	20	22	25	25	26	26	29		
70:	(65,71)	(81,43)	(68,57)	(10)	(12,85)	(18,57)	(21,43)	(25,71)	(28,57)	(31,43)	(35,71)	(35,71)	(37,14)	(37,14)	(41,43)		
0,125	60	64	59	14	15	17	18	23	31	36	38	39	39	39	41		
70:	(85,71)	(91,43)	(84,28)	(20)	(21,43)	(24,28)	(25,71)	(32,85)	(44,28)	(51,43)	(54,28)	(55,71)	(55,71)	(55,71)	(58,57)		

N.B. : Pourcentage entre parenthèses

E : Effectif

TABLEAU IV : Effet knock-down et mortalité cumulée chez les glossines non infectées

DOSES:	KNOCK-DOWN							MORTALITE CUMULEE									
(ng):																	
E:	1 H	3 H	6 H	24 H	48 H	72 H	4 J	6 J	8 J	10 J	12 J	14 J	16 J	18 J	20 J		
T	1	1	1	O	O	O	1	1	2	2	3	3	3	3	3		
70:	(1,43)	(1,43)	(1,43)	O	O	O	(1,43)	(1,43)	(2,85)	(2,85)	(4,28)	(4,28)	(4,28)	(4,28)	(4,28)		
0,06	24	47	35	1	1	2	2	4	6	9	11	12	13	14	15		
70:	(34,28)	(67,14)	(50)	(1,43)	(1,43)	(2,85)	(2,85)	(5,71)	(8,57)	(12,85)	(15,71)	(17,14)	(18,57)	(20)	(21,43)		
0,100	46	59	51	2	2	4	5	10	13	15	17	18	19	19	20		
70:	(65,71)	(84,28)	(72,85)	(2,85)	(2,85)	(5,71)	(7,14)	(14,28)	(18,57)	(21,43)	(24,28)	(25,71)	(27,14)	(27,14)	(28,57)		
0,125	56	64	57	9	14	14	17	20	24	26	30	32	32	34	35		
70:	(80)	(91,43)	(81,43)	(12,85)	(20)	(20)	(24,28)	(28,57)	(34,28)	(37,14)	(42,85)	(45,71)	(45,71)	(48,57)	(50)		

Figure 7 : Evolution de l'effet knock-down à 1h, 3h et 6h après application topique du décis sur des femelles de Glossina morsitans accouplées infectées et non par Trypanosoma congolense.

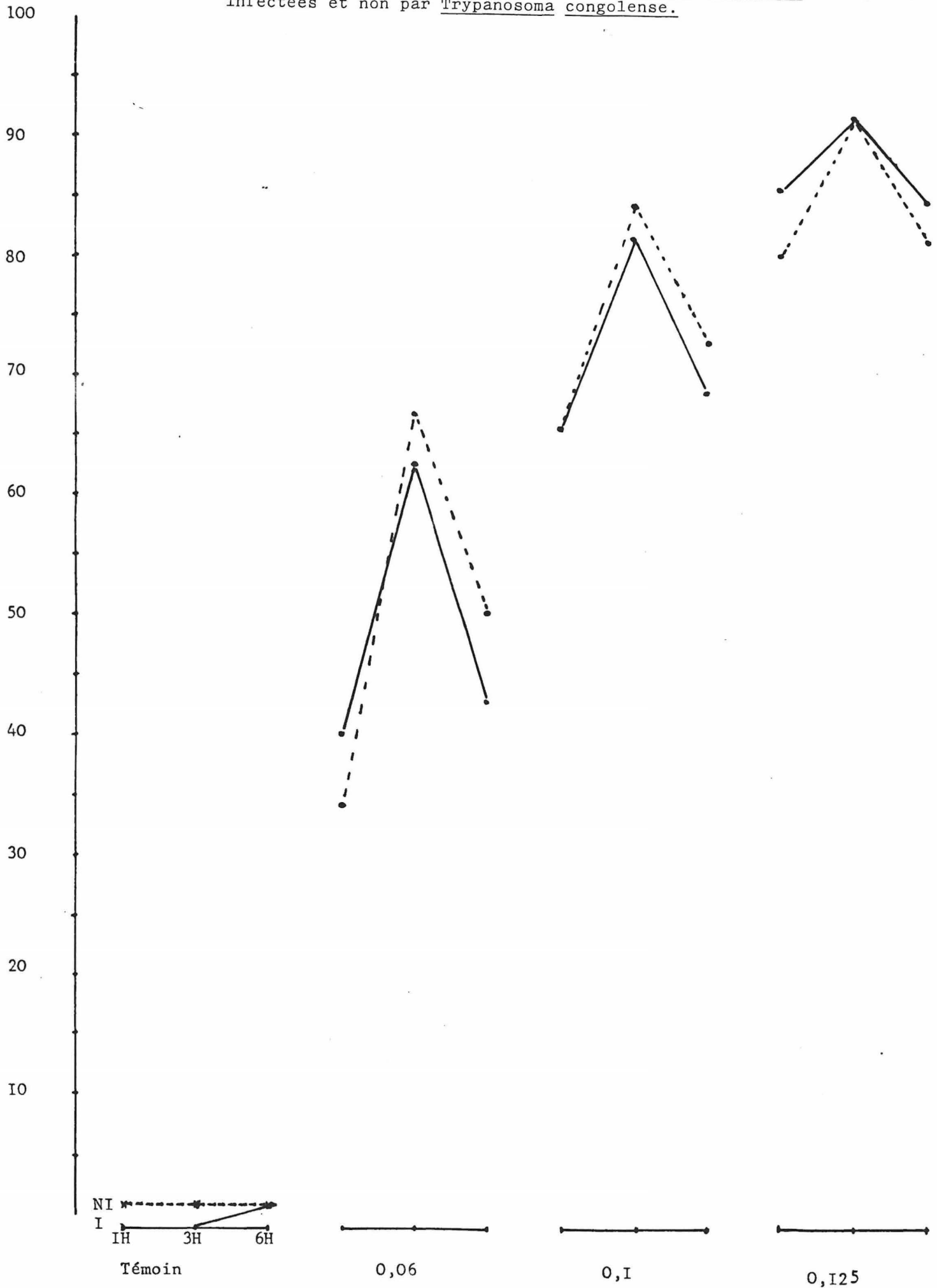


Figure 8 : Evolution de la mortalité après application topique du décis sur des femelles de Glossina morsitans morsitans accouplées infectées et non par Trypanosoma congolense.

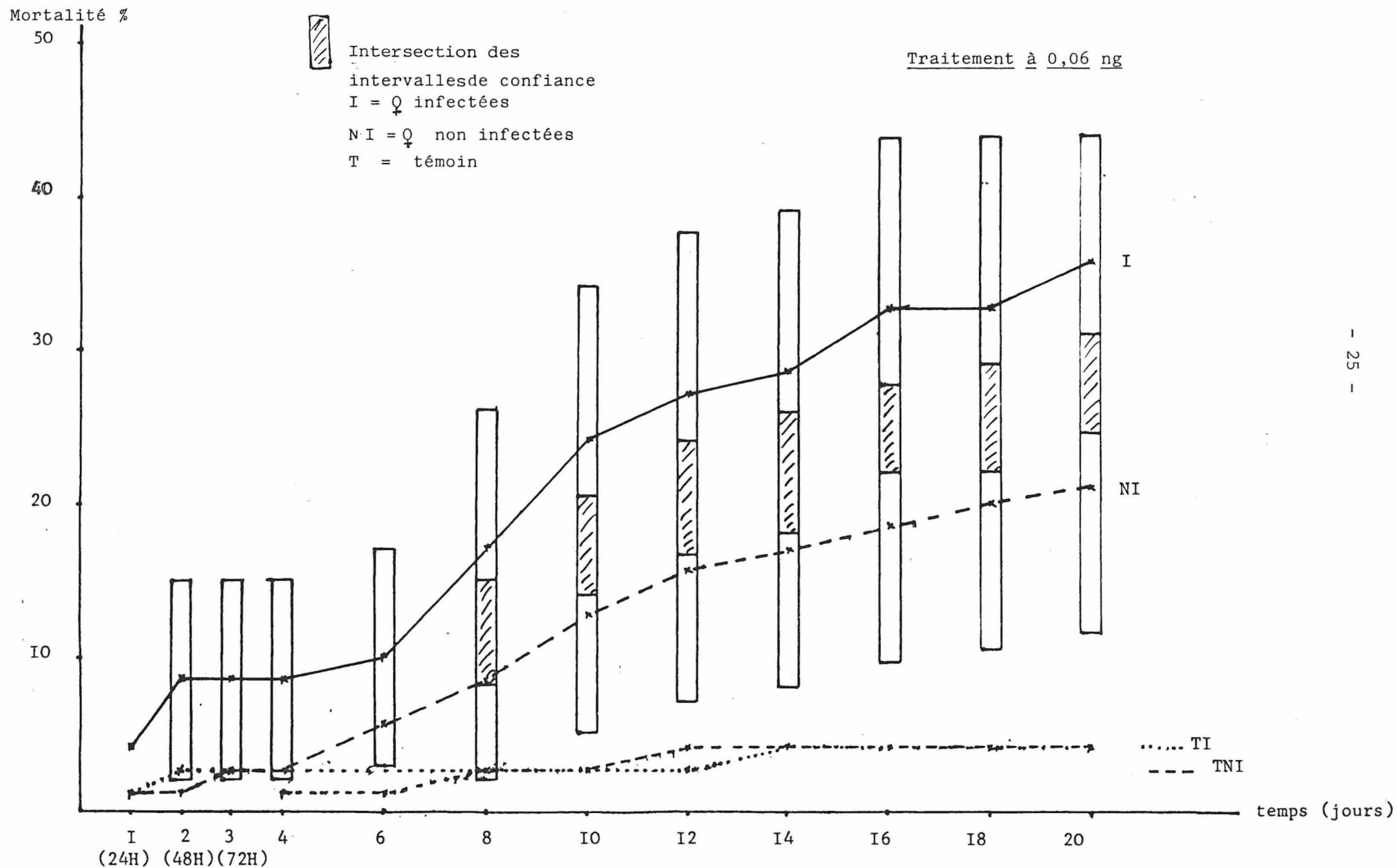


Figure 9 : Evolution de la mortalité après application topique du décès sur des femelles de Glossina morsitans morsitans accouplées, infectées et non par Trypanosoma congolense.

Traitement à 0,100 ng

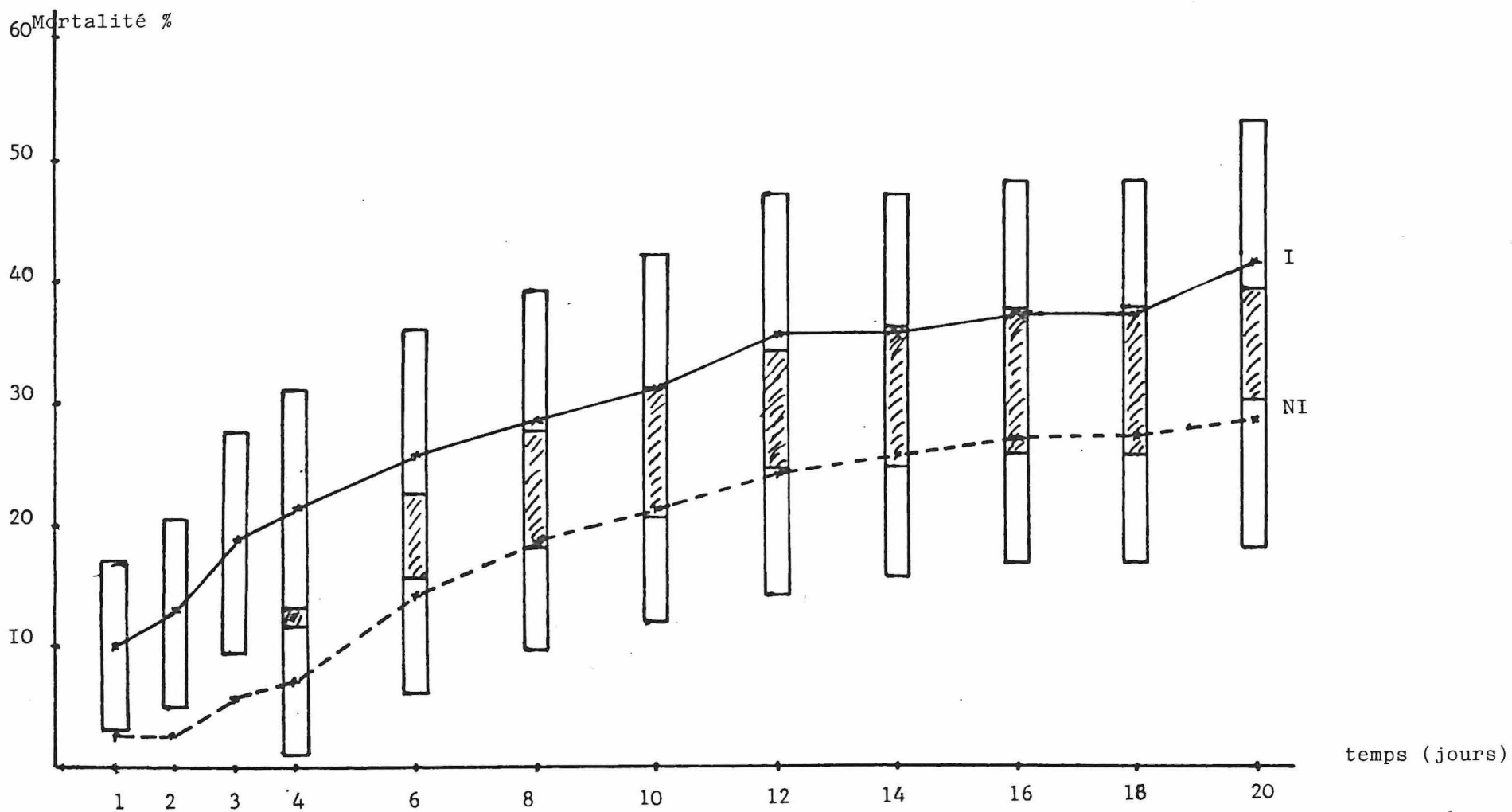
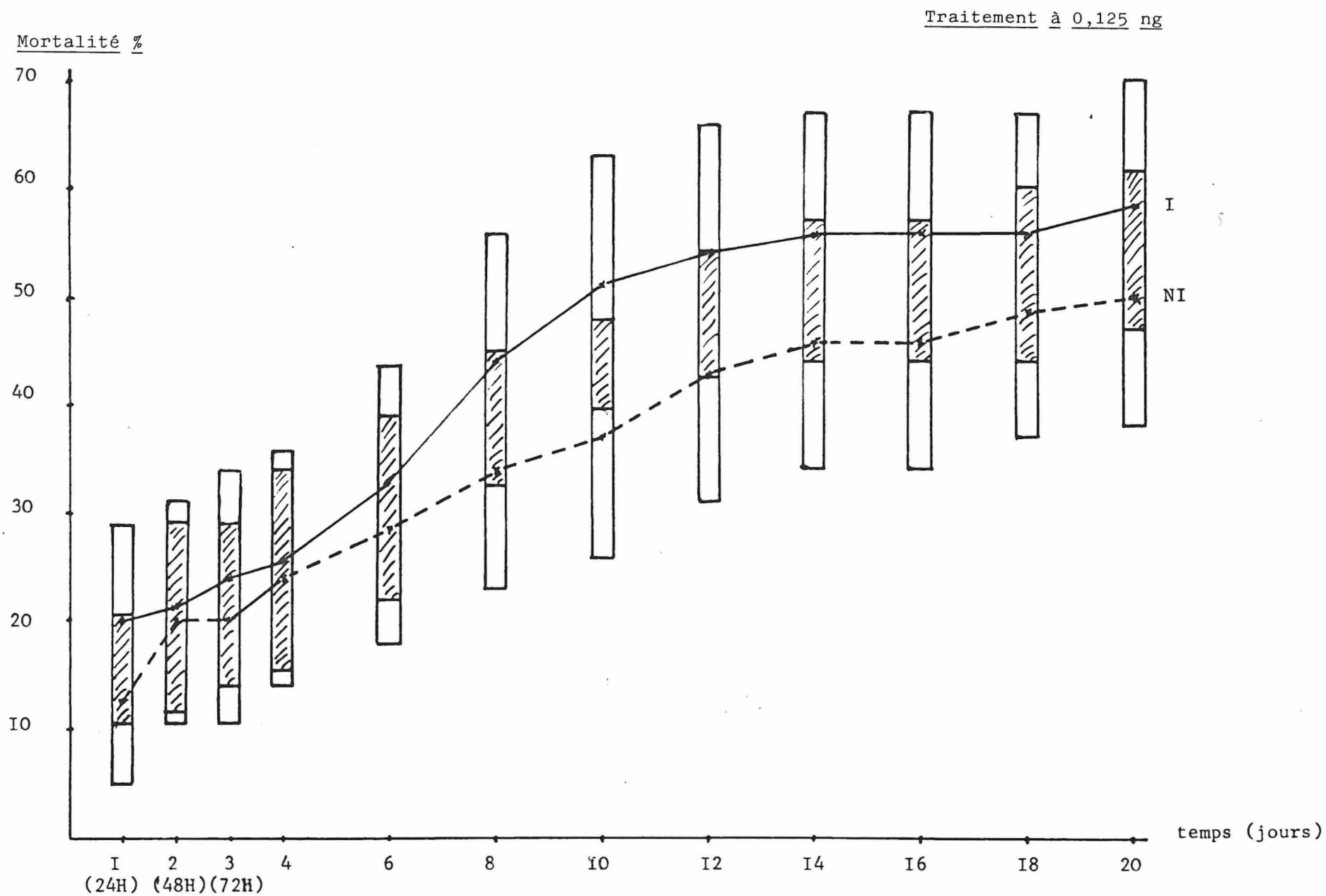


Figure 10 : Evolution de la mortalité après application topique dudécis sur des femelles de Glossina morsitans morsitans accouplées infectées et non par Trypanosoma congolense



IV DISCUSSION

1) Différence entre les résultats des tests préliminaires et ceux des tests proprement dits

La différence constatée entre les deux périodes d'expérience est probablement due à une maîtrise progressive de la méthode de notre part. En effet, au début nous manquions d'entraînement et nous manipulions les glossines avec beaucoup moins d'aisance, ce qui augmente les risques d'erreur (temps d'anesthésie au gaz carbonique (CO_2) plus long, dose reçue par mouche pouvant varier suivant le niveau de montée du liquide dans le tube capillaire) ; les mouches plus ou moins bien manipulées ont dû subir, au début de l'expérience quelques dommages.

2) Sensibilité des glossines infectées et des glossines non infectées

a) Témoins

La mortalité chez les témoins est restée faible durant toute l'expérience et cette mortalité ne diffère pas entre glossines infectées et glossines non infectées.

L'infection ne semble donc pas une cause de mortalité durant la période de l'expérience de 1 à 20 jours (figure 8 page 25).

b) Mouches traitées

- effet knock-down

Il y a une légère différence dans le pourcentage de mouches paralysées, mais elle n'est pas significative. L'infection n'a donc aucun effet, tout au moins immédiat sur le phénomène.

- mortalité

Bien que les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative, il demeure néanmoins que dans toutes les expériences, il existe une différence que met en évidence les graphiques des figures 8, 9 et 10 des pages 25, 26 et 27.

De plus grands effectifs de mouches que ceux utilisés dans notre travail auraient peut-être permis de mettre en évidence cette différence.

Dans la figure 9, page 26 (traitement à 0,100 ng), la mortalité parmi les mouches infectées suit parallèlement celle des mouches non

infectées ; cela signifierait que l'action conjuguée infection-insecticide est immédiate et que par la suite seule agit la mortalité par action de l'insecticide.

Dans le cas du traitement à 0,06 ng, (figure 8 page 25), les mortalités divergent; la mortalité chez les mouches infectées semble augmenter plus vite que celle des mouches non infectées ; ce qui pourrait indiquer qu'à la mortalité sous l'effet de l'insecticide s'ajoute celle provoquée par l'infection.

A la plus forte dose d'insecticide (0,125 ng), (figure 10 page 27) il semble y avoir une augmentation de la mortalité chez les infectées à partir du 6e-8e jour ; à partir du 10e jour les courbes demeurent parallèles.

Golder (1984) qui a utilisé un extrait naturel de pyrèthre sur Glossina morsitans morsitans infectée par Trypanosoma congolense conclut que les glossines infectées s'avèrent plus sensibles que les non infectées. Il trouve une différence significative chez les mâles et les femelles des deux groupes.

Comme dans notre expérience les glossines sont infectées dès leur éclosion; mais elles ne sont traitées qu'à partir de 40 à 45 jours d'âge après avoir isolé trois à quatre semaines après le repas infectant, les individus sûrement infectés. Alors que dans nos tests, les mouches sont traitées six jours après le repas infectant. Cela nous laisse supposer que l'infection n'étant pas encore très bien installée à 6 jours, les mouches n'en "souffrent" pas encore trop. Nous constatons qu'avec le temps, à faible dose (figure 8) les courbes de mortalité chez les infectées et les non infectées se séparent progressivement, comme si les glossines étaient d'autant plus sensibles que l'infection est plus ancienne.

Bien que la différence entre infectées et non infectées ne soit pas significative, il semble bien que les glossines infectées soient moins tolérantes que les non infectées. Il importe de faire remarquer que toutes les glossines nourries sur lapin infesté ne prennent pas l'infection. Le calcul des pourcentages de mortes parmi les lots des infectées est donc effectué sur un effectif excessif. Il faudrait éliminer des calculs le nombre d'individus qui n'ont pas pris l'infection. Nous nous proposons donc d'estimer à 20 jours, ce nombre de la façon suivante :

- A 0,06 ng, 15 mouches sont négatives sur 45 survivantes chez les infectées nominales ; chez les non infectées les survivantes sont au nombre ^{de} 55 sur 70, soit 15 mortes. Parmi les 70 "infectées", il devait

y avoir un nombre x de glossines non infectées lors du test :

$$x = \frac{70 \times 15}{55} = 19$$

Donc lors du traitement 70-19 = 51 glossines étaient réellement positives.

Parmi les survivantes 30 sont positives ; ainsi 51-30 = 21 mouches réellement infectées sont mortes ; ce qui donnerait un pourcentage de mortes égale à 41 p 100 (21/51).

Les mêmes méthodes de calcul sont appliquées aux autres lots :

- A 0,100 ng, on aurait 48 p 100 de mortes sur 46 mouches positives et à 0,125 ng, 63 p 100 de mortes sur 48 positives.

Les écarts en pour cent entre les infectées réelles et les infectées supposées après 20 jours d'observation seraient :

dose (ng)

- 0,06 : 41-36 = 5 %

- 0,100 : 48-41 = 7 %

- 0,125 : 63-59 = 4 %

Il y aurait donc bien une différence, mais les pourcentages estimés ne peuvent pas être utilisés pour tester la différence de sensibilité entre les mouches infectées et les non infectées.

Dans un travail ultérieur il faudrait utiliser de plus grands effectifs de mouches afin de pouvoir isoler, par la méthode de salivation, un nombre suffisant de mouches sûrement infectées ; les mouches seraient alors beaucoup plus âgées que celles que nous avons utilisées.

Les glossines infectées par les trypanosomes seraient des glossines malades ou tout au moins affaiblies. Les trypanosomes pourraient détourner une partie de l'énergie métabolique à leur profit ; l'organisme de la mouche serait alors plus sensible aux attaques de corps et de produits étrangers.

3) Influence du décis appliqué à faible dose sur le cycle de T. congolense chez Glossina m. morsitans

La dissection (PENCHENIER 1981 et ITARD 1983) après 20 jours d'observation montre que les mouches qui se nourrissent sur un animal trypanosomé, quel que soit le pic de parasitémie, ne s'infectent pas toutes.

Dans la nature, le repas se prenant sur un grand nombre d'animaux, certaines d'entre elles ne s'infectent que beaucoup plus tard. Les mouches, dans notre expérience, prennent un repas infectant 5 jours durant au cours desquels la parasitémie chez le lapin fluctue. Par la suite le repas est pris sur lapin sain pour ne pas perturber le cycle parasitaire sur lequel nous voulons vérifier l'action du pyréthrinofide.

Etant donné que les mouches traitées n'étaient pas toutes positives au départ, nous ne pouvons pas être sûr de l'effet de l'insecticide sur le cycle des trypanosomes.

Toutefois, nous avons remarqué chez les mouches survivantes à 20 jours, soit une infection sans équivoque, soit une absence totale de trypanosomes.

Le labre et l'hypopharynx sont rarement négatifs chez les individus infectés, lorsqu'ils le sont, des trypanosomes de forme allongée pullulent dans l'intestin moyen (formes en division) comme le témoignent les photographies 7, 8 et 9 des pages 32 et 33.

La décroissance des pourcentages de mouches positives du témoin à la plus forte dose pourrait suggérer une plus forte sensibilité des mouches positives qui sont éliminées les premières par le décis. Quant à la croissance des pourcentages des mouches négatives, elle serait peut-être due à la tolérance vis-à-vis de l'insecticide des mouches non infectées.

Cependant la différence entre les pourcentages des mouches négatives des témoins à la dose de 0,125 ng n'est pas significative.

A chaque dose d'insecticide, un pourcentage important de mouches reste infecté. Nous pouvons proposer deux hypothèses :

1) l'insecticide n'a aucune influence sur les trypanosomes de la mouche, hypothèse la plus vraisemblable que témoignent les résultats de nos dissections.

2) l'insecticide ayant été appliqué le 6e jour de l'infection, n'agirait pas sur des formes encore "sanguines" de trypanosomes qui n'ont pas encore amorcé leur multiplication.

Dans un travail ultérieur, l'action de l'insecticide sur les trypanosomes ne pourrait être observée que si l'on s'assure chez chaque individu de la présence des trypanosomes au début de l'expérience et de leur disparition à la suite d'un traitement insecticide.

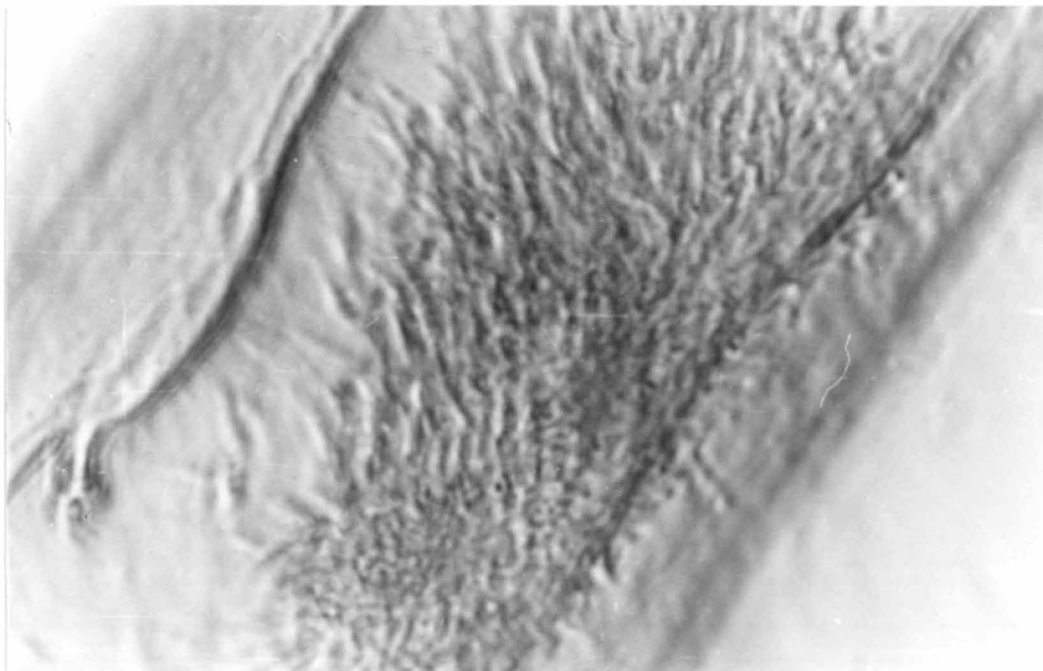


PHOTO N° 7 : TRYPANOSOMES (T. congolense) dans le labre d'une glossine (G. m. morsitans) traitée au décis (ob. x 50, oc. x 15 BK contraste de phase).

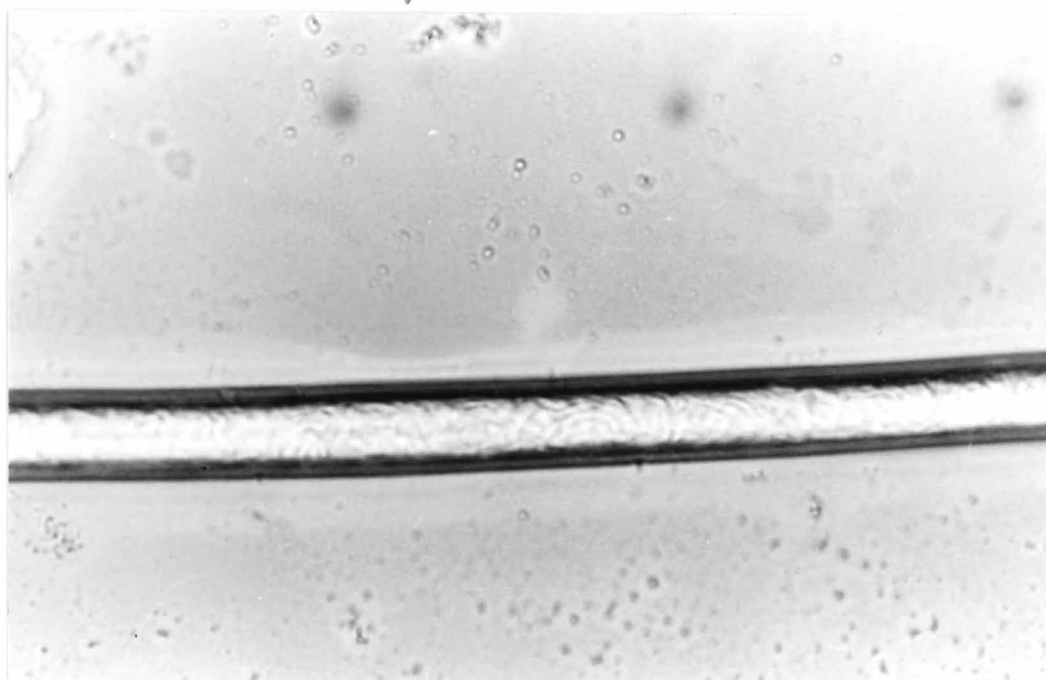


PHOTO N° 8 : TRYPANOSOMES (T. congolense) dans l'hypopharynx de G. m. morsitans (ob. x 40, oc. x 15) traitée au décis (métatrypanosomes).

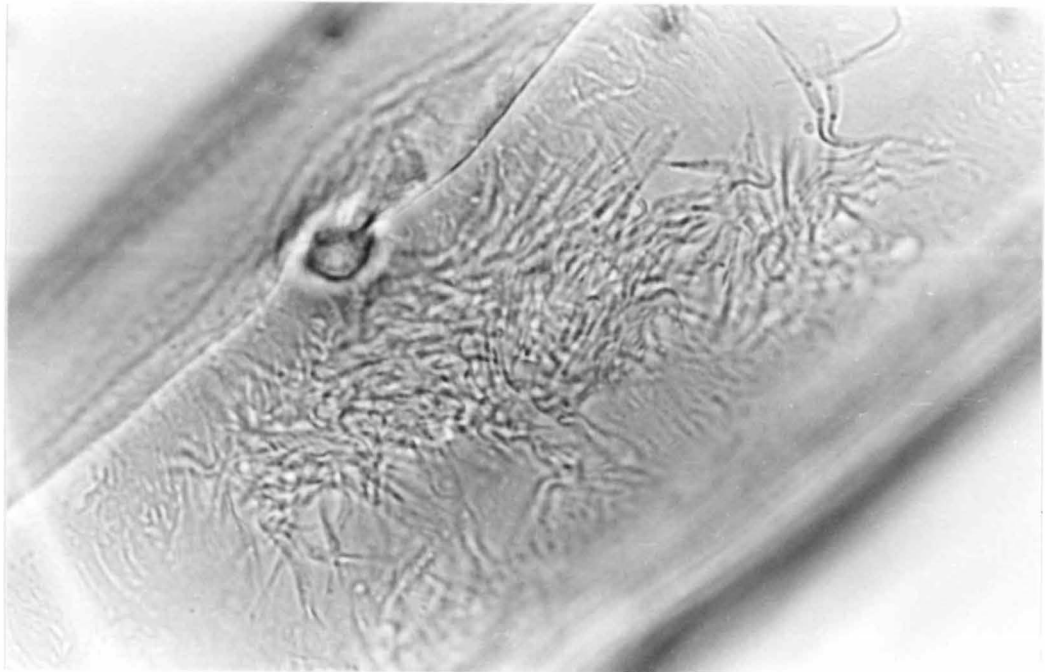


PHOTO N° 9 : TRYPANOSOMES (T. congolense) dans l'intestin moyen de
Glossina m. morsitans traitée au décis (ob. x 40, oc x 15)
(Trypomastigotes intestinaux)

V CONCLUSION

Bien que nous n'ayions pas pu montrer une différence significative entre les glossines (Glossina morsitans morsitans) infectées par les trypanosomes (Trypanosoma congolense) et les glossines non infectées, faute d'effectifs suffisants et de temps, ces expériences font néanmoins apparaître un effet de l'infection sur la sensibilité des mouches à la deltaméthrine et laissent entrevoir une action possible de l'insecticide sur les trypanosomes.

Il importerait de réaliser des expériences beaucoup plus complètes avec un temps plus long et un suivi constant du cours de l'infection de chaque individu.

Une expérience factorielle permettrait de mettre en évidence l'influence de l'infection, de la dose d'insecticide et du temps sur la mortalité ainsi que les interactions entre ces facteurs.

Si la lutte contre les glossines, vectrices des trypanosomiasés humaines et animales ne fait pas la distinction entre les individus infectés par les trypanosomes ou non, il est indéniable que les glossines les plus dangereuses sur le plan épidémiologique sont les glossines infectées.

D'ores et déjà on peut dire que sur le terrain un insecticide, qui ne tue pas à 100 p 100 les glossines présentes, peut détruire les glossines infectées, l'élément épidémiologiquement important de la population.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Anonyme : Deltaméthrine - Monographie ROUSSEL - UCLAF - 1982
ISBN 2 - 904125-00-0.
- 2 - BURTT (E.) : Salivation by Glossina morsitans on to glass slides :
A technique for isolating infected flies. Entomologist, Sleeping
Sickness Research Station, Tinde, Tanganyika Territory - 1946.
- 3 - CHALIER (A.) et SALES (A.W.) : Sensibilité de Glossina palpalis gam-
biensis au décis (OMS 1998), et étude préliminaire de l'effet
Knock-down - Bobo-Dioulasso Mission ORSTOM auprès de l'OCCGE 1976.
- 4 - ELIOT (M.), FARHAM (A.W.), JAMES (N.F.), NEEDHAM (P.H.) and PULMAN (D.A.)
1974 : Synthetic insecticide with a new order of activity.
Nature (London) 248, 710-711.
- 5 - FISHER (R.A.) : Statistical tables for biological, agricultural and
medical research. Oliver and Boyd-Edinburgh Tweeddale Court.
London 1963 : 146 p.
- 6 - GOLDER (T.K.), OTIENO (L.H.), PATEL (N.Y.), ONYANGO (P.) Increased
sensitivity to endosulfan of Trypanosoma-infected Glossina mor-
sitans. Ann. trop. Méd. Parasit. 76, 483-484 (1982).
- 7 - GOLDER (T.K.), OTIENO (L.H.), PATEL (N.Y.), ONYANGO (P.) Increased
sensitivity to a natural pyrethrum extract of Trypanosoma-in-
fected Glossina morsitans. Acta tropica 41, 77-79 (1984).
- 8 - GUILLET (P), COZ (J.) et al. : Etude de la sensibilité à quelques in-
secticides, OMS 1998, OMS 1821, OMS 2, OMS 1825, OMS 595 et OMS
570 de Glossines d'élevage : G. tachinoides, G. palpalis gambiensis
et G. fuscipes fuscipes.
Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasit. vol. XVII, n°2, 1979 :
81-87.

- 9 - ITARD (J.) : Les trypanosomoses animales africaines : Précis de parasitologie vétérinaire tropicale - I.E.M.V.T. 303-469 p (1981).
- 10 - ITARD (J.) : Les glossines I.E.M.V.T. ENS/III 99 - 1983 : 191 p.
- 11 - JENNI (L.), MOLYNEUX (D.H.), LIVERSEY (J.L.), GALUN (R.) : Feeding behaviour of tsetse flies infected with trypanosomes. Nature (Lond.) 283, 383-385 (1980).
- 12 - PENCHENIER (L.), ITARD (J.) : Une nouvelle technique de dissection rapide de glandes salivaires et de l'intestin moyen de Glossines. Cah. O.R.S.T.O.M. Sér. Ent. Méd. Parasit. 1981, 19, (1) : 55-57 p.
- 13 - SCHWARTZ (D.) : Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Flammarion Médecine Sciences, Paris, 1983 : 318 p.
- 14 - YOUDEOWEI (A.) : A simple technique for obser and collecting the saliva of tsetse flies (Diptera, Glossinidae). Bull. ent. Res. 65, 65-67 (1975).
- 15 - YOUDEOWEI (A.) : Salivary secretion in three species of tsetse flies (Glossinidae). Acta trop. XXXII, 2, 1975 - Miscellanea.
- 16 - YOUDEOWEI (A.) : Salivary secretion in wild Glossina Pallidipes Austen. (Diptera, Glossinidae) Acta trop. XXXIII, 4, 1976 - Entomology.

ANNEXE I



PHOTO N° 10 : GLOSSINA MORSITANS : Larve, pupe, femelle.



PHOTO N° 11 : GLOSSINE PIQUANT

ANNEXE II

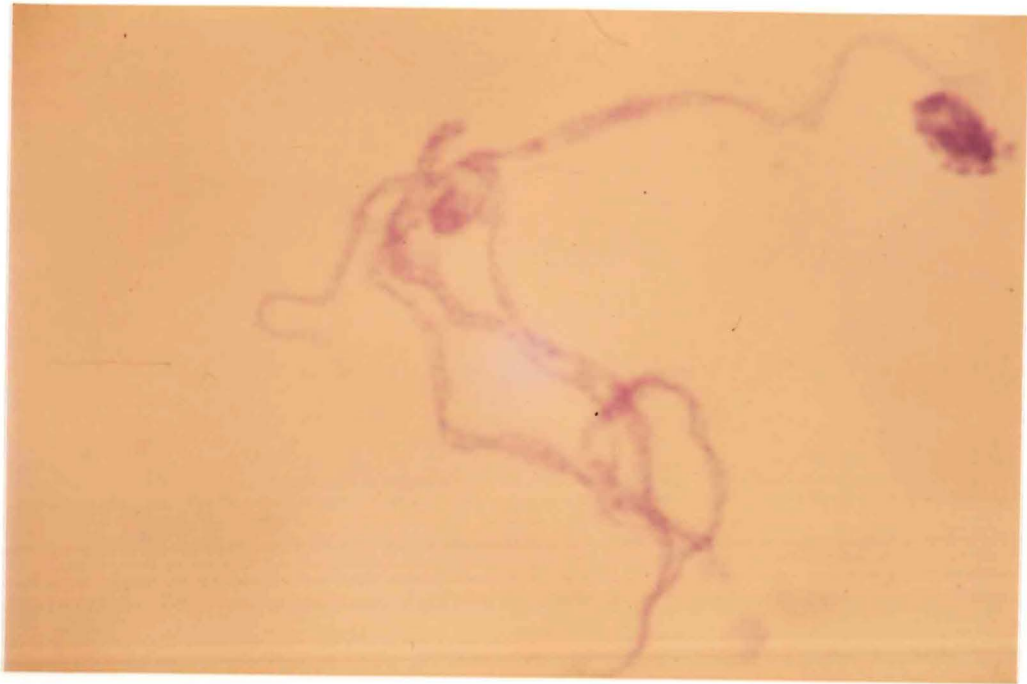


PHOTO N° 12 : TRYPOMASTIGOTES PROVENTRICULAIRES

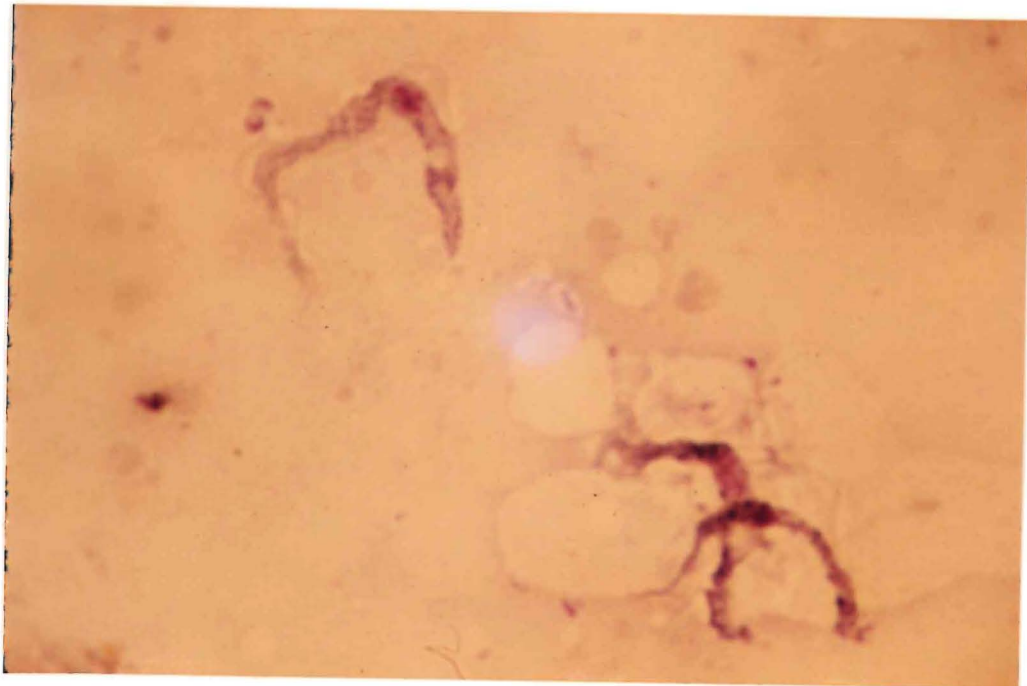
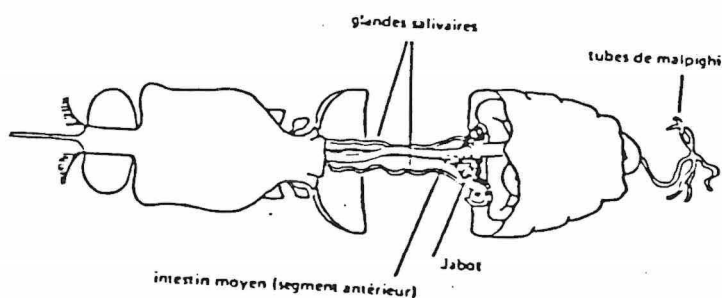


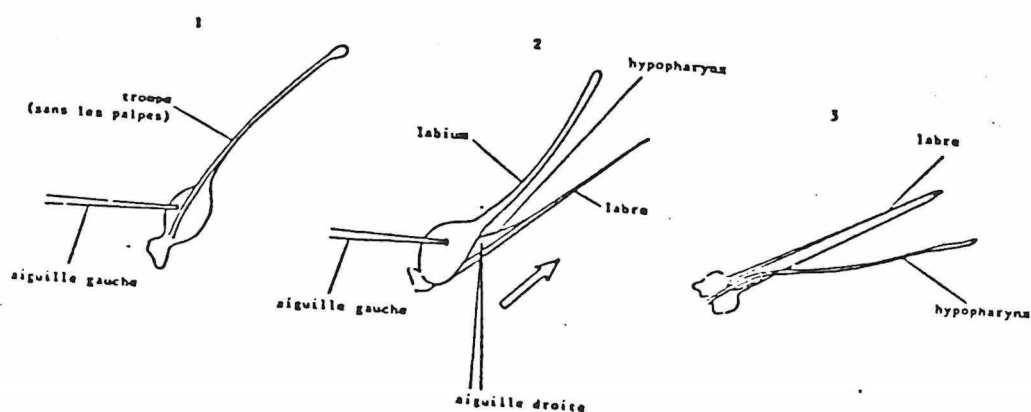
PHOTO N° 13 : TRYPOMASTIGOTES INTESTINAUX.



A - Position des pinces et ligne de rupture.



B - Mise en évidence des glandes salivaires.



C - Dissection du labre et de l'hypopharynx

PROGRAMME ANALYSE PROBIT

LES DOSES SONT EN ng

GL. MOR. DECIS MORTALITE 48H

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

! POINTS !	DOSES	MORTS	TOTAL SUJETS	% CORRIGE	LOG DOSE	PROB. ATTENDU!
! 01	! 00.060	! 008	! 0060	! 13.0	! 0.778	! 3.7
! 02	! 00.080	! 009	! 0060	! 15.0	! 0.903	! 4.2
! 03	! 00.100	! 018	! 0060	! 30.0	! 1.000	! 4.5
! 04	! 00.125	! 028	! 0060	! 47.0	! 1.097	! 4.8

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 0 %

DL 50= .138 ng

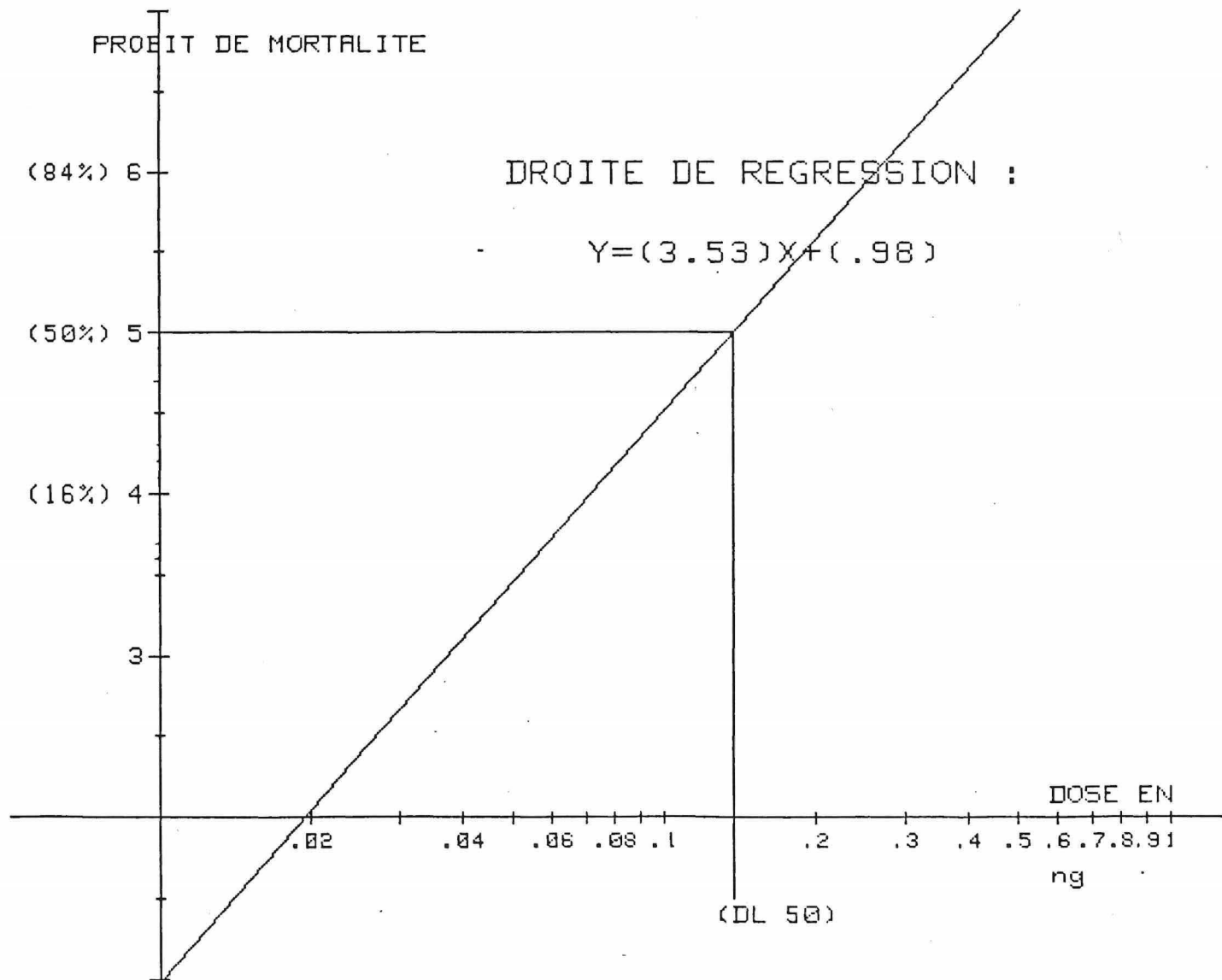
DL 90= .319 ng

LE Xdeux^{tabulaire} (DU TEMOIN) POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 1.818

IL N'EST DONC PAS SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .112 , .171
SOIT, UNE IMPRECISION DE 19 %



PROGRAMME ANALYSE PROBIT

GLO MOR M DECIS

KNOCK-DOWN 3H

LES DOSES SONT EN ng

ON AJOUTE +2 AU LOG POUR EVITER LES NOMBRES NEGATIFS

! POINTS !	DOSES !	MORTS !	TOTAL SUJETS !	% CORRIGE !	LOG DOSE !	PROB. ATTENDU !
! 01 !	! 00.060 !	! 018 !	! 0060 !	! 28.0 !	! 0.778 !	! 4.3 !
! 02 !	! 00.080 !	! 034 !	! 0060 !	! 55.0 !	! 0.903 !	! 5.2 !
! 03 !	! 00.100 !	! 044 !	! 0060 !	! 72.0 !	! 1.000 !	! 5.8 !
! 04 !	! 00.125 !	! 058 !	! 0060 !	! 97.0 !	! 1.097 !	! 6.4 !

LE POURCENTAGE DE MORTALITE CHEZ LE TEMOIN EST DE 3.3 %

DL 50= .076 ng

DL 90= .118 ng

tabulaire

LE Xdeux (DU TEMOIN) POUR UN RISQUE DE 5% EST DE 5.991

VOTRE Xdeux EST DE 3.88

IL N'EST DONC PAS SIGNIFICATIF

L'INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA DL 50 EST DE .071 , .081

SOIT UNE IMPRECISION DE 7 %

