9700880069

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE
FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL
UNIVERSITE DE PARIS VAL DE MARNE

CERTIFICAT D'ETUDES SUPERIEURES
DE PARASITOLOGIE GENERALE

—
RAPPORT DE STAGE
—

TRANSMISSION EXPERIMENTALE CYCLIQUE ET MECANIQUE DE :
- *Trypanosoma (N.) congolense* et *Trypanosoma (D.) vivax*
PAR LES GLOSSINES D'ELEVAGE

par

Philippe JACQUIET

Lieu de stage : laboratoire d'Entomologie de l'I.E.M.V.T. (France)
sous la direction de

Dr. vétérinaire Michel CLAIR,
Chef du service d'Entomologie

Organisme d'accueil : INSTITUT D'ELEVAGE ET DE MEDECINE VETERINAIRE
DES PAYS TROPICAUX - MAISONS ALFORT - (France)

Période de stage : 1er mars au 5 juillet 1988

LA TRANSMISSION EXPERIMENTALE CYCLIQUE ET MECANIQUE DE :

- TRYPANOSOMA (N.) CONGOLENSIS

- TRYPANOSOMA (D.) VIVAX

PAR LES GLOSSINES D'ELEVAGE

par

Philippe JACQUIET

SOMMAIRE

	page
REMERCIEMENTS.....	1
1. INTRODUCTION.....	2
2. OBJECTIFS.....	2
3. MATERIEL.....	3
3.1. Les glossines.....	3
3.2. Les trypanosomes.....	4
3.3. Les animaux nourriciers.....	5
3.4. Les animaux révélateurs.....	5
PREMIERE PARTIE - TRANSMISSION CYCLIQUE	
1. METHODES.....	7
1.1. Inoculation aux animaux nourriciers et contrôles de la parasitémie.....	7
1.1.1. Décongélation des stabilats.....	7
1.1.2. Inoculation proprement dite.....	7
1.1.3. Contrôle de la parasitémie, de l'hématocrite.....	7
1.2. Alimentation et infection des mouches.....	8
1.3. Contrôle de l'infection des mouches.....	8
1.3.1. Dissection.....	8
1.3.2. Passage sur souriceaux nouveaux-nés....	8
2. RESULTATS.....	9
2.1. <u>T. (D.) vivax</u> (Nigeria, animal source: lapin).	9
2.2. <u>T. (D.) vivax</u> (Nigeria, animal source: mouton)	9
2.3. <u>T. (D.) vivax</u> (Guyane).....	10
2.4. <u>T. (N.) congolense</u>	11

3. DISCUSSION.....	12
3.1. Considérations générales.....	12
3.2. <u>T. (D.) vivax</u> souche Nigeria.....	13
3.3. <u>T. (D.) vivax</u> souche Guyane.....	14
3.4. <u>T. (N.) congolense</u>	15
DEUXIEME PARTIE - TRANSMISSION MECANIQUE	20
1. METHODES	20
1.1. <u>T. vivax</u> (Nigeria).....	20
1.2. <u>T. congolense</u>	20
2. RESULTATS	21
3. DISCUSSION	21
4. CONCLUSION.....	22
BIBLIOGRAPHIE	24

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur CLAIR pour avoir accepté ce stage et m'avoir guidé dans ce travail,

Monsieur Salif NITCHEMAN, qui très gentiment et patiemment a été le conseiller de tous les instants,

et tout le personnel du service Entomologie de l'IEMVT, pour les nombreux conseils pratiques qu'il m'a prodigués, ainsi que pour l'accueil chaleureux qu'il m'a réservé durant ce stage.

1. INTRODUCTION

En Afrique, les deux principales espèces de trypanosomes pathogènes du bétail sont :

- Trypanosoma (Duttonella) vivax Ziemann, 1905 et
- Trypanosoma (Nannomonas) congolense Broden, 1904

La position systématique du genre Trypanosoma parmi les protozoaires (Hoare 1972) est la suivante :

- embranchement : Protozoa Goldfuss 1918 ;
- sous-embranchement : Sarco mastigophora Honigberg et Balmuth 1963 ;
- super-classe : Mastigophora Diesing 1866 ;
- classe : Zoomastigophora Calkins 1909 ;
- ordre : Kinétoplastida Honigberg 1963
- sous-ordre : Trypanosomidae Kent 1880 ;
- famille : Trypanosomatidae Doflein 1901.

Cette famille comprend huit genres dont le genre Trypanosoma auquel appartiennent les deux espèces citées plus haut.

Ces dernières sont transmises cycliquement par les glossines ou mouches tsé-tsé : diptères, brachycères, hématophages dans les deux sexes.

Leur cycle évolutif chez le vecteur diffère suivant l'espèce. Il est limité à la trompe (labre et hypopharynx) pour T. (D.) vivax ; il passe successivement par l'intestin, le labre puis l'hypopharynx pour T. (N.) congolense.

2. OBJECTIFS

Ce sont les glossines qui assurent la transmission cyclique des principaux trypanosomes du bétail africain. Mais toutes les espèces n'ont pas la même capacité vectorielle. Propriété que l'on définit comme la capacité pour un arthropode, de s'infecter, d'assurer le développement complet du parasite jusqu'à sa forme infectante et de le transmettre. C'est dans le but de comparer le pouvoir vecteur des cinq espèces de glossines d'élevage de Maisons-Alfort pour deux trypanosomes du bétail africain :

- T. (D.) vivax et
- T. (N.) congolense,

que ce travail a été entrepris.

Nous voulions également reconnaître et isoler des mouches sûrement infectées par T. vivax afin de suivre l'évolution de l'infection du vecteur en fonction du temps.

Mais ces mêmes glossines sont également incriminées dans la transmission mécanique ; c'est pourquoi le deuxième volet de ce travail comprend des essais de passage mécanique avec d'autres lots de glossines.

Enfin, et pour terminer, nous nous sommes intéressé à une souche de T. (D.) vivax de Guyane adaptée à la transmission mécanique dans cette région dépourvue de glossines.

Nous avons également tenté la transmission cyclique de cette souche guyanaise avec les glossines d'élevage.

3. MATERIEL

3.1. Les glossines

Cinq espèces de glossines sont élevées au laboratoire d'Entomologie de l'IEMVT Maisons-Alfort :

- Glossina morsitans morsitans Westwood, 1850, souche de Rhodésie (Zimbabwe) ;

- Glossina austeni Newstead, 1912, souche de Langford, Angleterre ;

- Glossina palpalis gambiensis Vanderplank, 1949, souche de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso ;

- Glossina tachinoides Westwood, 1850, souche de NDjaména, Tchad ;

- Glossina fuscipes fuscipes Newstead, 1910, souche de Bouar, RCA.

Dans la salle d'élevage, la température est maintenue à $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et l'humidité relative entre 70 et 80 p.100. La salle d'élevage reste éclairée artificiellement douze heures par jour.

Les adultes sont placés dans des cages de Roubaud constituées d'un cadre métallique recouvert par une toile

moustiquaire à mailles fines. Le diamètre des mailles permet le passage des pupes à travers celles-ci.

On accouple des mâles âgés d'une semaine et des femelles de trois jours. L'accouplement est long, il peut durer une heure ou plus. La première ponte a lieu entre 16 et 20 jours après l'éclosion puis les pontes ultérieures se succèdent tous les 10 jours en moyenne.

La glossine expulse une larve de 3e stade mobile, dont la transformation en puce est très rapide.

La récolte des larves 3 et des jeunes pupes se fait tous les jours ; elles sont placées en incubation pendant un mois environ. Les adultes éclosent entre 25 et 35 jours après, les femelles avant.

Ceux-ci sont triés en mâles et femelles sous froid. Pour nos expérimentations nous avons constitué des lots de mâles et des lots de femelles recueillis le plus tôt possible après l'éclosion (soit moins de 24 heures).

Constitution des lots

Trypanosome	Animal source	Espèces de glossines	Nombre	
			♂	♀
<u>T. vivax</u> (Nigeria)	lapin	les cinq espèces	20	20
	mouton	<u>G. palpalis gambiensis</u> <u>G. m. morsitans</u>	46 16	20 22
<u>T. vivax</u> (Guyane)	chèvre	<u>G. palpalis gambiensis</u> <u>G.m. morsitans</u>	11 31	6
<u>T. congolense</u>	lapin	les cinq espèces	40	40

3.2. Les trypanosomes

On utilise des stabilats conservés dans l'azote liquide.

Trypanosoma (D.) vivax

Souche Y 486 isolée par Leeflang au Nigeria, clonée et transmise cycliquement à l'ILRAD (International Laboratory for Research on Animal Diseases) Nairobi. Cette souche est

adaptée sur rongeurs alors que dans la nature T. vivax ne passe pas sur les rongeurs.

Souche de Guyane, isolée par Lancelot en Novembre 1986 à partir du sang d'un taurillon et conservée à l'azote liquide (stabilat titrant au départ $25 \cdot 10^4$ tryp/ml).

Trypanosoma (N.) congolense

Souche EATRO-325 reçue de l'Ouganda en 1967 et conservée en azote liquide depuis janvier 1971. Décongelée en février 1982, cette souche a subi depuis, de nombreux passages sur différents animaux de laboratoire (souris, cobayes, lapins) et des recongelations. Ce trypanosome passe naturellement sur rongeurs.

3.3. Les animaux nourriciers

L'animal nourricier sert à l'alimentation des mouches et comme source de trypanosomes

Transmission	Espèce de trypanosome	Espèce source
cyclique	<u>T. congolense</u>	lapin Bouscat mâle et femelle plus de 3 kg
	<u>T. vivax</u> (Nigeria)	lapin Bouscat mouton
	<u>T. vivax</u> (Guyane)	chèvre alpine
mécanique	<u>T. vivax</u> (Nigeria) <u>T. congolense</u>	souris NMRI sevrées mâles et femelles

3.4. Animaux révélateurs

Il s'agit de souriceaux (NMRI) âgés d'une semaine environ (début de pilosité sur le dos permettant le marquage à l'acide picrique) qui servent de révélateurs de l'infection des mouches dans les conditions que nous décrirons ultérieurement.

PREMIERE PARTIE
TRANSMISSION CYCLIQUE

1. METHODES

1.1. Inoculation aux animaux nourriciers et contrôle de la parasitémie

1.1.1. Décongélation des stabilats

Les tubes capillaires sont placés dans un cristallisateur contenant de l'eau à 37-40°, pendant une à deux minutes. Leur contenu est ensuite dilué dans du P.S.G. dans le rapport 1 volume de sang pour 9 volumes P.S.G. Le mélange est contrôlé sous microscope à contraste de phase.

1.1.2. Inoculation proprement dite

L'inoculation se fait par injection IV à la veine marginale de l'oreille, pour le lapin, le mouton et la chèvre, en intra-péritonéale, pour la souris.

1.1.3. Contrôle de la parasitémie, et de l'hématocrite

Après ponction sanguine à la veine marginale de l'oreille, on recueille le sang dans des tubes à hématocrite héparinés, que l'on obture à une des extrémités par une pâte de scellement.

Le tube est ensuite centrifugé à 12 000 t/mn pendant trois minutes.

On mesure l'hématocrite sur le diagramme, puis on découpe le tube suivant les lignes AA' BB'

Tube à microhématocrite après centrifugation

Le contenu de la portion prélevée est examiné sous microscope à contraste de phase (10 x 40).

Cette méthode permet la concentration des trypanosomes au niveau de l'interphase entre les globules rouges et le plasma où sont aussi concentrés les globules blancs (GB).

L'évolution de l'hématocrite est un précieux renseignement sur l'état de santé de l'animal parasité. Quand l'hématocrite du lapin est inférieur à 20, on le traite avec un trypanocide, le Trypamidum à la dose de 0,5 mg/kg en intra-musculaire.

1.2. Alimentation et infection des mouches

Lorsque la parasitémie de l'animal nourricier apparaît, les mouches écloses du jour même sont placées, sur les oreilles des lapins, ou le flanc du mouton ou de la chèvre, afin de recevoir leur premier repas et du même coup leur première infestation.

Les repas ultérieurs sur ces lapins positifs sont en principe infectants. Cependant, il arrive parfois que lors d'un contrôle on ne trouve pas de trypanosomes. On sait en effet que la parasitémie est fluctuante.

La plupart des mouches se nourrissent le jour de leur éclosion, les autres prendront leur repas infectant le lendemain.

1.3. Contrôle de l'infection des mouches

1.3.1. Dissection

1.3.1.1. Dans le cas de T. vivax (souches Nigeria et Guyane)

On se limite à la dissection de la trompe où se fait le développement du trypanosome.

La méthode de dissection consiste à séparer à l'aide de fines aiguilles les trois éléments de la trompe :

le labre, le labrum et l'hypopharynx que l'on monte ensuite entre lames et lamelles. L'observation se fait au grossissement 10 x 40. On observe dans le labre des formes épimastigotes regroupées en rosettes et dans l'hypopharynx des formes métacycliques infectantes

1.3.1.2. Dans le cas de T. congolense

Le cycle est plus complexe, les trypanosomes passent dans l'intestin moyen, dans le labre et dans l'hypopharynx. On dissèque une petite portion d'intestin moyen que l'on place dans du sérum physiologique pour l'examen au microscope, puis on dissèque la trompe comme précédemment.

Dans l'intestin moyen, on trouve des formes allongées, trypomastigotes très mobiles.

1.3.2. Passage sur souriceaux nouveau-nés

Le passage sur souriceaux (âgés d'une semaine environ) nécessite une manipulation individuelle (une mouche par souriceau).

A chaque mouche correspond un souriceau reconnaissable par son numéro inscrit sur le dos à l'acide picrique. La mouche à tester prend plusieurs repas successifs sur son souriceau et après un délai d'au moins 15 jours après le premier repas on contrôle le sang du souriceau. Le prélèvement sanguin est effectué à la queue, on pratique l'examen direct entre lame et lamelle. L'observation est menée au grossissement 10 x 40 sur 40 champs.

Si le souriceau est positif, la mouche qui lui correspond est non seulement infectée mais infectante.

Cette méthode a été utilisée dans le but de trier un nombre suffisamment important de femelles sûrement infectantes et de suivre le devenir de l'infection dans la mouche.

2. RESULTATS

2.1. *T. (D.) vivax* (Nigeria, animal source : lapin) (tableau 1, page 9 bis)

. Sur 87 mâles disséqués (toutes espèces de glossines confondues), aucun n'a été retrouvé infecté dans le labre ni dans l'hypopharynx.

. Sur 90 femelles éprouvées sur souriceaux, aucune ne s'est révélée infectante.

Il faut remarquer que souvent la parasitémie était faible, inférieure à un trypanosome par champ.

2.2. *T. (D.) vivax* (Nigeria, animal source : mouton) (tableau 2, page 10 bis)

Cette souche adaptée sur rongeur a gardé son pouvoir pathogène pour le mouton.

. Avec *Glossina morsitans morsitans* :

- 16 mâles ont été retrouvés négatifs (labre et hypopharynx) ;

Transmission cyclique de *T. (D.) vivax* (Nigeria)

(Animal source : lapin)

Tableau 1 - A - Contrôle de l'infection trypanosomienne
- Glossines mâles par dissection

Espèce de glossine	Date de l'éclosion et du premier repas sanguin	Date de la dissection	Nombre de jours après l'éclosion	Nombre de glossines disséquées	Résultats de la dissection		Nb de +
					L*	H*	
<i>G. tachinoides</i>	09/03	23/03	14	17	0	0	0
<i>G. f. fuscipes</i>	"	29/03	20	19	0	0	0
<i>G. p. gambiensis</i>	"	22/03	13	15	0	0	0
<i>G. m. morsitans</i>	"	21/03	12	16	0	0	0
<i>G. austeni</i>	"	25/03	16	20	0	0	0
TOTAL				87	0	0	0

* L = Labre

* H = Hypopharynx

B - Contrôle de l'infection trypanosomienne

- Glossines femelles par passage sur souriceaux

Espèce de glossine	Date de l'éclosion et du premier repas sanguin	Date des repas sur souriceaux	Nombre de glossines	Date du contrôle des souriceaux	Résultats
					souriceaux positifs
<i>G. tachinoides</i>	09/03	28-31/03	19	12/04	0
<i>G. f. fuscipes</i>	"	23-25-28-31/03	18	11/04	0
<i>G. p. gambiensis</i>	"	21-25-28-31/03	18	11/04	0
<i>G. m. morsitans</i>	"	21-25-28-31/03	16	06/04	0
<i>G. austeni</i>	"	21-24-28-31/03	19	11/04	0
TOTAL			90		0

- mais sur 6 femelles du 09/6 disséquées le 01/07, soit 22 jours après le premier repas infestant, 3 ont présenté une infection dans le labre, 2 dans l'hypopharynx. Il est à noter que dans un cas, l'infection de l'hypopharynx n'était pas accompagnée d'infection du labre ;

- sur 16 femelles écloses du 15/06 et disséquées le 02/07, une, présentait des épimastigotes dans le labre sans métacycliques dans l'hypopharynx, et une autre présentait le cas exactement inverse, des métacycliques dans l'hypopharynx, sans épimastigotes dans le labre.

. Pour Glossina palpalis gambiensis (tableau 2, page 10 bis)

Sur 46 mâles disséqués, 5 présentent des trypanosomes dans le labre et 4 dans l'hypopharynx et sur 20 femelles, une seule est positive (labre).

Mais dans tous les cas, pour G.m. morsitans comme pour G. palpalis gambiensis, les infections sont extrêmement faibles. Chez une Glossina palpalis gambiensis mâles, nous avons retrouvé une petite rosette, mais elle reste l'exception, car pour le reste les amas d'épi-mastigotes ne dépassaient pas 20 individus et les métacycliques dans l'hypopharynx ne dépassaient pas la dizaine.

Le passage sur souriceaux n'a pas pu être mis en oeuvre faute de temps, cela aurait permis de savoir si les mouches positives + étaient "mûres" réellement infectantes avec des métracycliques infectants. Les autres espèces de glossines n'ont pû être éprouvées.

2.3. T. (D.) vivax (Guyane) (Tableau 3, page 10 bis)

Aucune glossine ni dans le lot Glossina morsitans morsitans, ni dans le lot Glossina palpalis gambiensis ne s'est révélée infectée (labre et hypopharynx négatifs).

Tableau 2 - Transmission cyclique de *T. (D.) vivax* - Nigeria -
(animal source : mouton)

Espèce de glossine	Date de l'éclosion et du premier repas	Date de la dissection	Sexe	Nombre de glossines disséquées	Résultats			
					L*	H*	Nb +	p.100 +
<i>G. morsitans morsitans</i>	09/06	01/07	♂	16	0	0		
	09/06	01/07	♀	6	3	2	4	
	15/06	02/07	♀+	16	1	1	2	
TOTAL				38	4	3	6	15,8
<i>G. palpalis gambiensis</i>	09/06	29/06	♂	46	5	4	5	
	09/06	01/07	♀	20	1	0	1	
TOTAL				66	6	4	6	9,1

* L = Labre

* H = Hypopharynx

Tableau 3 - Transmission cyclique de *T. (D.) vivax* - Guyane -
(animal source : chèvre)

Espèce de glossine	Date de l'éclosion et du premier repas	Date de la dissection	Sexe	Nombre de glossines disséquées	Résultats			
					L*	H*	Nb +	p.100 +
<i>G. morsitans morsitans</i>	12/06	27/06	♂ et ♀	26	0	0	0	
	13/06	28/06	♂	5	0	0	0	
TOTAL				31	0	0	0	
<i>G. palpalis gambiensis</i>	13/06	30/06	♂	11	0	0	0	
	13/06	30/06	♀	6	0	0	0	
TOTAL				17	0	0	0	

* L = Labre

* H = Hypopharynx

2.4. T. (N.) congolense (tableau 4)Tableau 4 - Transmission cyclique de T. (N.) congolense

Espèce de glossine	Nombre de glossines	Pourcentage d'infection					
		Intestin		Labre		Hypopharynx	
		Nombre	p.100	Nombre	p.100	Nombre	p.100
<i>G. tachinoides</i>	27	3	11,1	1	3,7	1	3,7
<i>G. austeni</i>	38	19	50	6	15,8	10	26,3
<i>G. morsitans</i>	38	13	34,2	13	34,2	12	31,6
<i>G. p. palpalis gambiensis</i>	44	10	22,7	0	0	0	0
<i>G. f. fuscipes</i>	31	0	0	0	0	0	0

Dans ce tableau il ressort que :

- Glossina morsitans morsitans est le meilleur vecteur, suivi de très très près par G. austeni, en retenant les formes infectantes dans l'hypopharynx.

- Glossina tachinoides est un vecteur médiocre. Enfin Glossina palpalis gambiensis et Glossina fuscipes fuscipes n'ont pas présenté d'infection dans le labre ni dans l'hypopharynx. Aucune de ces mouches n'est donc infectante au moment de la dissection bien que G.p. gambiensis présente un pourcentage non négligeable de formes intestinales (22,7 p.100.).

3. DISCUSSION

3.1. Considérations générales

Depuis longtemps les entomologistes ont cherché à mettre en évidence des différences dans le pouvoir vecteur des diverses espèces de glossines.

Le tableau 5 (page 12 bis) résume quelques uns de ces travaux. Il apparaît d'emblée que les résultats obtenus sont très variables.

Lorsqu'on veut parler de taux d'infection d'une espèce de glossine par une espèce de trypanosome, il faut donner le maximum de précisions sur le matériel sur lequel on travaille.

a) La population de glossine utilisée : est issue de souches maintenues dans des conditions artificielles depuis plus de vingt ans au service d'Entomologie de l'IEMVT.

b) La souche de trypanosome : Ces souches ont été congelées depuis de nombreuses années. Elles ont aussi subi des passages à la seringue. (Ce qui pourrait entraîner une sélection de formes incapables de développement cyclique chez la glossine. Dans le cas de T. vivax (souche Nigeria), elle a été adaptée aux rongeurs. .

c) Les animaux hôtes : l'espèce, l'âge, le sexe, l'importance de la parasitémie (forte ou faible), la phase de la parasitémie (phase ascendante, pic, phase descendante.); Est-on au premier pic ? Tous ces facteurs peuvent avoir une influence sur le cycle.

d) Conditions extérieures de l'élevage des glossines : température, humidité, éclairage... pour les adultes comme pour les pupes.

e) Méthodes de diagnostic de l'infection des mouches : dissection, salivation sur lame, passage sur animaux réceptifs.

f) Le temps entre le repas infectant et les tests : combien de temps a-t-on laissé le cycle se dérouler chez la mouche avant d'éprouver cette dernière ?

Ce sont des facteurs difficiles à standardiser et qui rendent compte de la complexité du phénomène que l'on essaye d'appréhender. En fait, nous travaillons sur un modèle avec tous les risques de "décalage" par rapport aux conditions naturelles...

Tableau 5 - Pourcentage de glossines infectées par les trypanosomes.

parasoma	Glossina	CONDITIONS			RESULTATS			
		infection	mouches	diagnostic	infection (p.100)	Auteur	Année	
L	<i>palpalis</i> <i>morsitans</i> <i>morsitans</i>) <i>palpalis</i>) <i>tachinoïdes</i>)	naturelle	sauvages	dissection	1,91	ADAM & col. JORDAN LLOYD & al.	1971 1964 1924	
	"	"	"	3,7				
	"	"	"	19,0				
	"	"	"	2,6				
	"	"	"	7,6				
	<i>morsitans</i> <i>morsitans</i>) <i>tachinoïdes</i>)	expérimentale	élevage	inoculation veau ou mouton	50	Mc CABE & al.	1970	
	<i>morsitans</i>) <i>tachinoïdes</i>)	"	sauvage	dissection	78,4 73,7	ROBERTS & al.	1972	
	<i>morsitans</i>) <i>tachinoïdes</i>) <i>pallidipes</i>) <i>fuscipes</i>) <i>brevipalpis</i>)	naturelle	"	"	2,3 à 9,2) 1,6 à 3,3)	ROBERTS & al.	1972	
	"	"	"	inoculation vache	60,7 58,3 25,0	WILSON & al.	1969	
	Lucei	<i>palpalis</i> <i>morsitans</i> <i>morsitans</i> <i>morsitans</i>	naturelle naturelle naturelle expérimentale	sauvages " " ?	dissection " " ?	0,15 < 1 0 5,8	ADAM & col. FORD & al. JORDAN PAGE	1971 1961 1964 1972
<i>fuscipes</i>) <i>pallidipes</i>)		"	sauvages	souris + salive	2 13	VAN VEGTEN	1972	
<i>morsitans</i>) <i>cuxteni</i>)		"	élevage	dissection	25,2 18,5			
<i>pallidipes</i>) <i>fuscipes</i>) <i>brevipalpis</i>)		naturelle	sauvage	souris	60 50 0	WILSON & al.	1969	
Lense		<i>palpalis</i> <i>morsitans</i> <i>palpalis</i> <i>palpalis</i>	naturelle expérimentale naturelle expérimentale	sauvage ? sauvage "	dissection ? dissection dissection + inoculation	0,18 12 - 13 0 0	ADAM & col. ELCE FORD GODFREY	1971 1971 1971 1966
		<i>morsitans</i>) <i>pallidipes</i>) <i>fuscipes</i>)	"	"	dissection + salive	11,6 13,2 2,9	HARLEY & al.	1968
		<i>morsitans</i> <i>tachinoïdes</i>) <i>palpalis</i>) <i>morsitans</i>)	naturelle	"	dissection	3,1		
		<i>morsitans</i>) <i>tachinoïdes</i>) <i>morsitans</i>) <i>morsitans</i>) <i>tachinoïdes</i>) <i>morsitans</i>) <i>cuxteni</i>) <i>pallidipes</i>) <i>fuscipes</i>) <i>brevipalpis</i>)	expérimentale " " élevage naturelle	" " " " sauvage	salive dissection " " souris	8,2 76 7,0 2,5 29,4 13,8 47,2 12,5 23,8	JORDAN LLOYD & al. NANTULYA & al. ROBERTS & al. WARD & al. WILSON & al.	1964 1924 1978 1972 1972 1969

3.2. La transmission cyclique de la souche Y 486 de T. vivax du Nigeria

Camus en 1981 a travaillé sur cette souche en utilisant comme animal source la souris, chez qui, il obtenait une parasitémie importante (cf. tableau 6, page 14 bis).

Des lots de mouches des cinq espèces prennent un seul repas infectant sur ces souris puis sont maintenus sur des cobayes sains. Ceux-ci contrôlés régulièrement (une prise de sang tous les deux jours) ne se sont pas révélés infectés, ainsi au 28e jour après le repas infectant les lots de mouches ont été disséqués.

Les résultats sont les suivants :

Espèce de glossine	Nombre +/Nombre total	p.100 +
<u>G.p. gambiensis</u>	0/19	0
<u>G.m. morsitans</u>	11/18	61,1
<u>G. tachinoides</u>	2/9	22,2
<u>G. austeni</u>	0/10	0
<u>G.f. fuscipes</u>	5/16	31,2

Lorsque nous reprenons la même expérimentation mais en utilisant le lapin comme animal source, toutes les espèces de glossines, les mâles comme les femelles restent négatives et ceci en utilisant deux méthodes d'identification des mouches "infectées" :

- La dissection pour les mâles ;
- Le passage sur souriceau nouveau-né pour les femelles.

Nos résultats sont à rapprocher de ceux de Desowitz (1952) dont la souche de T. vivax adaptée sur rats après 585 passages a perdu sa capacité à évoluer chez le vecteur. De même, récemment Gathuo et collab. (1987) adaptent deux souches de T. vivax d'Afrique de l'Est sur rats et ne peuvent plus infecter G.m. centralis avec ces souches modifiées.

Mais lorsque nous tentons la transmission cyclique de la souche Y 486 en prenant comme animal source le mouton, nous constatons que :

- la souche a conservé son pouvoir pathogène pour le mouton. Dix jours après l'inoculation, l'hématocrite était

descendu à 26 et la température culminait à 41°2. Le lendemain l'hématocrite ayant encore chuté à 23 avec plus de 20 trypanosomes par champ, le mouton a été traité pour éviter sa perte (tableau 6, page 14 bis).

- on retrouve des épimastigotes dans le labre et des métacycliques dans l'hypopharynx mais en très petit nombre (cf. tableau 2, page 10 bis). Nous ne savons pas si ces métacycliques sont matures c'est-à-dire s'ils peuvent déterminer une infection chez un hôte réceptif.

Dans ce cas, la capacité à évoluer chez la glossine est conservée mais semble très diminuée. Le tableau 6, page 14 bis résume les conditions dans lesquelles se sont déroulées les expériences de transmission cyclique de la souche Y 486 à partir du lapin, du mouton et des souris.

Un élément important est à souligner : les trois expérimentations (souris, lapin, mouton) n'ont pas été conduites au même moment puisque Camus a travaillé à partir des souris en 1981, tandis que les manipulations avec le lapin et le mouton ont été conduites en 1988. Sept années séparent donc les deux séries d'expérience et on peut envisager qu'un séjour prolongé de la souche en azote liquide ou plus vraisemblablement des conditions différentes à la décongélation aient pu entraîner des modifications de la souche. On peut également incriminer un vieillissement des glossines d'élevage.

Quoiqu'il en soit, il serait sans doute intéressant de reprendre les trois expériences de front afin de préciser si une même souche de trypanosome présente des potentialités différentes à la transmission cyclique en fonction de l'espèce hôte qui l'héberge.

3.3. La transmission cyclique de la souche guyanaise de T. vivax (cf. tableau 3, page 10 bis)

Sept jours après l'inoculation intra-veineuse de la souche, la chèvre a présenté une hyperthermie (40,2 et 41,3°) et une parasitémie qui dans l'intervalle de six heures est passée de trois trypanosomes à 15 par champ.

Elle a été traitée au Trypamidium (ND) à la dose de 0,25 mg/kg en intra-musculaire et les contrôles ultérieurs ont montré le retour à la normale T = 39° et une parasitémie nulle.

Mais les mouches nourries en phase de parasitémie et appartenant aux espèces G.m. morsitans et G.p. gambiensis n'ont pas été retrouvées infectées.

Tableau 6 - Expériences de transmission cyclique avec *T. vivax* (Nigeria)

Animal source	Souris	Lapin	Mouton
Conditions extérieures (température, humidité..)		idem.	
Nombre de repas infectant	un seul	multiples	7 repas sûrement infectants
Age au premier repas infectant	1 jour	1 jour	1 jour
Parasitémie au premier repas infectant	forte	2 trypanosomes par champ (G = 10 x 40)	1 trypanosome pour 10 champs (G = 10 x 40)
Durée de l'évolution chez le vecteur avant les tests	28 jours	12 à 20 jours	20 jours
Méthodes d'identification mouches infectées	dissection	mâles = dissection femelles = passage sur souriceau	dissection
Evolution Pouvoir pathogène	très rapide inoculation IP — mort en 48 h. ++++	chronique, variable parfois difficulté à faire apparaître la parasitémie ±	rapide en 11 jours — maladie aigüe ++
Parasitémie des hôtes	> 100 trypanosomes par champ	parasitémies élevées très rares souvent < 1/champ	au 11e jour : > 20 trypanosomes par champ
Transmission cyclique	61 p.100 avec ⁺⁺⁺ <i>Glossina morsitans morsitans</i>	0	7,9 p.100 avec <i>G. morsitans</i> 6 p.100 avec <i>G.p. gambiensis</i>

Néanmoins, trop peu de mouches ont été testées (31 G.m. morsitans et 17 G.p. gambiensis) et avec ce résultat trop partiel nous ne pouvons conclure.

Toutefois, selon Stephen (1986), le T. vivax d'Amérique du Sud aurait perdu sa capacité à évoluer chez son vecteur d'origine : la glossine.

3.4. La transmission cyclique de T. congolense (tableau 4, page 11)

Age au premier repas infectant

Le cycle de T. congolense comprend des stades intestinaux : les trypanostigotes qui doivent franchir la membrane péritrophique pour se retrouver dans l'espace ecto-péritrophique.

Selon certains auteurs, les glossines ne pourraient s'infecter avec T. congolense que lors des premiers repas sanguins, quand la membrane péritrophique est fragile, peu épaisse, peu chitinisée. C'est pourquoi, nous avons placé toutes nos mouches dans les meilleures conditions, le premier repas étant infectant et ayant lieu le jour de l'éclosion.

Ce premier repas de sang de lapin titrait, pour les mouches écloses le 09/03 (tableau 1, page 9 bis), au moins 4 trypanosomes par champ ($G = 10 \times 40$).

Les repas ultérieurs ont été pour la plupart infectants, même ceux qui précédaient de peu la dissection.

L'âge de la mouche à la dissection

L'âge à la dissection est variable, il s'étale de 35 à 93 jours. Or, la durée du cycle de T. congolense (1981) présente les extrêmes suivantes : 7 et 53 jours. Toutefois dans les conditions d'ambiance dans lesquelles se trouvent les glossines à Maisons Alfort, la durée moyenne du cycle serait d'une vingtaine de jours.

La mortalité enregistrée dans les lots de glossines a été importante

Espèce de glossine	Sexe	Age lors de la dissection	Mortalité
<u>G. tachinoides</u>	mâle	40 j	70 p.100
		58 j	70 p.100
	femelle	69 j	25 p.100
<u>G. austeni</u>	mâle	35 j	85 p.100
		63 j	95 p.100
	femelle	64 j 77 j	25 p.100 5 p.100
<u>G.m. morsitans</u>	mâle	37 j 64 j	60 p.100 30 p.100
		femelle	51 j
<u>G.p. gambiensis</u>	mâle	35 j 56 j	45 p.100 65 p.100
		femelle	41 j 93 j
	<u>G.f. fuscipes</u>	mâles	40 j 52 j
femelles			52 j

Chaque ligne correspond à un lot différent de glossines. Les mouches mortes n'ont pas été disséquées et nous n'avons travaillé au moins pour les mâles que sur un petit nombre de survivants.

Y avait-il des mouches infectées et infectantes dans les mouches mortes ? L'infection trypanosomienne diminue "l'espérance de vie" de la glossine (Nitcheman, 1988). Il pourrait donc y avoir une proportion importante de mouches infectées parmi les mouches mortes.

Autant de questions auxquelles nous ne pouvons répondre. Nous apprécions la situation à un instant "chez les survivantes".

Néanmoins, nous constatons qu'avec G.m. morsitans, les mâles du 09/03 disséqués le 15/04 soit 37 jours après l'éclosion montrent un taux d'infection de 62,5 p.100, alors que les mâles du 15/03 et disséqués 64 jours après l'éclosion n'ont pas montré d'infection.

Il serait intéressant de suivre l'évolution de l'infection de G.m. morsitans par T. congolense en fonction du temps.

Importance de l'espèce de glossine

Déjà Godfrey (1958) note l'échec d'infestation de G. palpalis avec diverses souche de T. congolense présentant des caractéristiques morphologiques différentes.

Willet et collab. (1964) et Stephen (1986) ne peuvent infecter G. palpalis et G. fuscipes avec T. congolense.

Pour notre part, si nous avons retrouvé des trypomastigotes dans l'intestin moyen de G.p. gambiensis (tableau 4, page 11), femelle nous n'en avons pas retrouvée chez G.f. fuscipes et nous n'avons trouvé ni épimastigotes, ni métacycliques chez ces deux espèces.

Ces résultats confirment donc ceux des autres auteurs (Godfrey 1966, Harley et Wilson 1968, Ford 1971, Roberts et Gray 1972). Ces deux espèces de glossines seraient de très mauvais vecteurs de T. congolense sinon totalement réfractaires.

Pour G. tachinoides, trois mâles sur douze ont présenté une infection de l'intestin moyen mais les formes présentes y étaient peu nombreuses et plus trapues que celles que l'on rencontre chez G.m. morsitans ou même G. austeni. Enfin, un mâle a montré une infection de l'hypopharynx assez importante sans que l'on puisse trouver de formes évolutives dans l'intestin ou le labre. L'infection au bout de 52 jours était-elle sur le point de s'épuiser ?

Les femelles ont toutes été retrouvées négatives. Orouyé en 1986 obtient avec G. tachinoides un pourcentage de 14,28 p.100 d'infection intestinale 7,14 p.100 dans le labre et 3,57 p.100 dans l'hypopharynx et cela 20 jours après le repas infectant. G. tachinoides peut transmettre T. congolense mais sa capacité vectorielle est plus faible que celle de G. austeni et surtout de G.m. morsitans.

Les études réalisées en conditions naturelles avaient déjà montré que G.m. morsitans présente le même taux d'infection avec T. vivax qu'avec T. congolense à condition que ces deux trypanosomes soient disponibles de façon équivalente pour ces glossines.

Le cas de G. austeni nous semble intéressant :

- 50 p.100 des glossines de cette espèce présentaient une infection de l'intestin moyen, puis on trouve une proportion plus importante, d'infection de l'hypopharynx (26,31 p.100) que dans le labre (15,78 p.100) ;

- 26,31 p.100 est un chiffre bien plus important que celui d'Orouyé (1986), 1,63 p.100 !

Nous avons travaillé sur la même souche de T. congolense, avec les mouches de l'IEMVT et ceci à deux ans d'intervalle, Les conditions d'ambiance restant les mêmes.

Orouyé a disséqué 61 G. austeni, 20 jours seulement après le premier repas infectant. Pour notre part, nous en avons disséqué 37 ; 3 au bout de 35 jours, 19 au bout de 55 jours, 16 au bout de 64 jours.

Le maximum de taux d'infection se situe dans le lot disséqué au bout de 55 jours.

G. austeni permettrait-elle un développement plus lent de T. congolense ?

L'espèce de glossine, toutes les autres conditions étant égales par ailleurs, a-t-elle une importance dans la durée du cycle d'une même souche de trypanosome ?

Voilà encore matière à investigations...

DEUXIEME PARTIE
TRANSMISSION MECANIQUE

1. METHODES

1.1. T. vivax (Nigeria)

La source de T. vivax est le lapin n°2 : hématoците 22, nombre trypano/champ = 15.

L'espèce de glossine utilisée comme vecteur mécanique est G. tachinoides. Les mouches sont vierges car l'expérimentation a lieu le jour de l'éclosion (il n'y a pas de transmission transovarienne des trypanosomes).

Les animaux réceptifs sont des souriceaux NMRI âgés d'une semaine. On sait qu'une inoculation Intra-Péritonéale (I.P.) de cette souche de T. vivax provoque la mort en moins de 48 heures.

Les glossines sont réparties par cages de 4 mâles ou 5 femelles. Elles débutent leur repas de sang sur l'oreille du lapin ; dès qu'elles commencent à se gorger (début de réplétion du jabot), on les retire et on les place immédiatement sur deux souriceaux. Les souriceaux sont contrôlés 11 jours après, par examen de sang, prélevé à l'extrémité de la queue, puis observé au microscope à contraste de phase (40 champs parcourus). Ils sont ensuite maintenus en élevage. Le 28 avril soit 27 jours après l'expérimentation, ils sont tous vivants.

1.2. T. congolense

On utilise des souris sevrées NMRI femelles comme sources de T. congolense car elles permettent d'obtenir une meilleure parasitémie.

Cinq souris sont inoculées par voie I.P. par un mélange PBS + sang du lapin n°8, hématoците 30, nombre de trypano = 1 pour 3 champs. Le mélange d'injection pour les souris titre, après dilution, 1 trypanosome pour 6 champs. Cinq jours après, toutes les souris sont positives et deux présentent une parasitémie > 100 trypanosomes par champ.

Seuls ces deux dernières sont utilisées pour le passage mécanique. On utilise cette fois-ci des lots de 10 mâles ou de 10 femelles, de chacune des cinq espèces de glossines disponibles.

A chaque cage correspond un seul souriceau âgé d'une semaine.

La cage de glossines est appliquée sur le dos de la souris sevrée, dès que trois ou quatre mouches commencent à

se gorger, on retire la cage et on la place immédiatement sur le souriceau.

Ces derniers sont contrôlés par examen du sang prélevé à l'extrémité caudale au bout de 10, 16, 20, 30 jours après le passage.

2. RESULTATS

T. vivax (Nigeria)

Aucun des souriceaux ne s'est révélé positif 12 jours après le passage alors que la souche est très virulente pour la souris. Aucun souriceau n'est mort durant la période d'observation qui a duré un mois. Il y a donc eu échec de la transmission mécanique de cette souche de T. vivax avec G. tachinoides et dans les conditions dans lesquelles nous avons placé l'expérience.

T. congolense

Le protocole est le même, on utilise 10 cages de 10 mouches pour pratiquer le repas interrompu. 10 jours après l'expérience, tous les souriceaux sont négatifs mais 16 jours après, le souriceau correspondant aux mâles de G.f. fuscipes se révèle positif et le restera au fur et à mesure des contrôles successifs (10 trypanosomes par champ, puis 2, puis plus de 50 par champ, 30 jours après). Tous les autres souriceaux resteront négatifs.

Il y a donc eu passage mécanique de T. congolense avec les mâles de G.f. fuscipes, à l'exclusion des autres.

3. DISCUSSION

Il faut noter d'emblée la difficulté, avec laquelle les glossines parviennent à se nourrir sur les souris adultes. Celles-ci se débattent, perturbant le repas des mouches, obligées de s'y reprendre à plusieurs fois.

D'autre part, dans un lot de 10 mouches, nous ne pouvons affirmer que les individus qui ont commencé leur repas sur l'animal source vont bien continuer à se gorger, une fois transposés sur le souriceau réceptif.

Pour toutes ces raisons, les nombreux résultats négatifs que nous avons enregistrés ne nous permettent pas de conclure.

En revanche, avec les mâles de G.f. fuscipes, le souriceau réceptif a présenté une parasitémie à T. congolense attestant de ce fait que ce trypanosome à cycle évolutif

complexe chez la glossine peut dans certaines conditions (passage immédiat de l'animal source à l'animal réceptif, nombre de mouches suffisant, parasitémie de l'animal source importante > 100/champ) être transmis par la voie mécanique.

Il serait sans doute intéressant de reprendre ces expérimentations, afin de mieux cerner le rôle des glossines dans la transmission mécanique de T. congolense.

Toutefois, il semble préférable de modifier les conditions, à savoir utiliser :

- un animal source, une glossine, un souriceau, de manière à pouvoir contrôler le début du repas, son interruption et le complet gorgement de la glossine sur l'animal réceptif.

Mais, comme l'a très bien souligné Wells en 1972 dans son article sur la transmission mécanique des trypanosomes responsables du Nagana, il ne faut pas confondre les conditions expérimentales du laboratoire, qu'on cherche à optimiser pour réussir le passage et les conditions naturelles.

A ce propos, il conviendrait éventuellement de faire varier quelques paramètres, en particulier, reprendre l'expérimentation avec une parasitémie plus faible, plus proche des parasitémies "naturelles". De même, pourrions-nous faire intervenir, le facteur durée de l'interruption du repas afin de savoir combien de temps les trypanosomes survivent dans et où sur les pièces buccales de la glossines, ainsi que le facteur nombre de glossines nécessaires...

4. CONCLUSION

Les expérimentations entreprises au laboratoire d'entomologie de l'IEMVT n'ont que partiellement atteint les objectifs que nous nous étions fixés au départ.

Il semble acquis qu'il est illusoire de vouloir comparer la capacité vectorielle intrinsèque des glossines d'élevage pour T. vivax en utilisant des souches adaptées sur rongeurs. En effet, celles-ci sont beaucoup trop éloignées des souches sauvages et perdent souvent leur capacité à évoluer cycliquement chez la glossine. Les résultats obtenus ne reflètent que les caractéristiques d'un "modèle" qui ne correspond plus du tout aux propriétés du T. vivax sauvage africain.

Par ailleurs, les résultats très différents obtenus par Camus en 1981, posent la question suivante :

- une même souche de trypanosome développe-t-elle des potentialités différentes à la transmission cyclique selon

qu'elle se trouve chez telle ou telle espèce d'hôte mammifère ? Rappelons, qu'avec la souche de T. vivax (Nigeria), la transmission cyclique a bien réussi à partir du mouton et qu'elle a été impossible à partir du lapin.

Cette question mériterait d'être approfondie. Il ne nous a pas été possible de suivre l'infection de T. vivax chez les glossines en fonction du temps.

Malgré le petit nombre de glossines disséquées dans le cadre de la transmission cyclique de la souche Guyanaise, nous arrivons à un résultat prévisible :

- échec au passage par G.m. morsitans et G.p. gambiensis. Ce trypanosome n'est pas adapté sur rongeurs et se transmet uniquement par voie mécanique en Amérique du Sud.

En ce qui concerne la transmission cyclique de T. congolense, nos résultats viennent confirmer les données antérieures :

- G.f. fuscipes et G.p. gambiensis sont des vecteurs médiocres, G.m. morsitans est bon vecteur, l'élément nouveau consiste en une forte proportion de G. austeni infectant.

Les expérimentations sur la transmission mécanique ont souffert d'une méthodologie encore approximative. Néanmoins, elles ont fait apparaître un élément nouveau :

- T. congolense peut être transmis de façon mécanique par G.f. fuscipes.

Là encore, ce travail est inachevé et mériterait d'être repris, approfondi dans des conditions expérimentales plus strictes.

BIBLIOGRAPHIE

1. AMOSA (V.O.), 1983 - Diseases produced by Trypanosoma vivax in ruminants, horses and rodents. Zbl. Vet. Med., 30 : 717-741.
2. BAKER (J.R.), 1970 - Techniques for the detection of trypanosome infections (p. 67-88). In Mulligan (A.W.) 1970, the african trypanosomiases, Georges Allen. 950 p.
3. BAKER (J.R.), 1977 - Factors affecting transmission of vector born blood parasites. Acta Tropica, 34 : 7-19.
4. BLACKLOCK (B.) and YORKE (W.), 1913 - T. vivax in rabbits. Ann. Trop. Med. Parasitol., 7 : 563-568.
5. BURTT (E.), 1946 (a) - Incubation of tsetse pupae : increased transmission rate of Trypanosoma rhodesiense in Glossina morsitans. Ann. trop. Med. Parasti., 40 : 18-28
6. CLARKE (J.E.), 1965 - Trypanosome infections in the mouthparts of Glossina morsitans : a correlation between extent of labral infection and invasion of the hypopharynx. Ann. Trop. Med. Parasit., 59 : 235-239.
7. CLARKE (J.E.), 1966 - Trypanosome infections in the mouthparts of Glossina morsitans, variations in frequency and extent of labral infection with age. Ann. Trop. Med. Parasit., 60 : 223-229.
8. CLARKE (J.E.), 1969 - Trypanosome infection rates in the mouthparts of Zambian tsetse flies. Ann. Trop. Med. Parasit., 63 : 15-34.
9. CROFT (S.L.), KUZOE (F.A.S.), RYAN (L.), MOLYNEUX (D.H.), 1986 - Trypanosome infection rates of Glossina spp. in transitional forest-savanna near Bouaflé. Ivory Coast. Tropenmed. Parasit., 35 : 247-250.
10. DESOWITZ (R.S.), WATSON (J.M.C.), 1951 - Studies on Trypanosoma vivax, susceptibility of white rats to infection. Ann., Trop. Med. Parasitol., 45 : 207-219.
11. DESOWITZ (R.S.), 1952 - Studies on Trypanosoma vivax observations on the maintenance of a strain in white rats. Ann. Trop. Med. Parasitol., 46 : 92-100.

12. DESOWITZ (R.S.), 1953 - Studies on T. vivax, the maintenance of a strain in white rats without sheep serum supplement. Ann. Trop. Med. Parasitol., 47 : 62-67.
13. DESOWITZ (R.S.), FAIRBAIRN (H.), 1955 - The influence of temperature on the length of the developmental cycle of Trypanosoma vivax in Glossina palpalis. Ann. Trop. Med. Parasitol., 49 : 161.
14. DISTELMANS (W.), MAESCLEER (F.D.), 1981 - The susceptibility of G.p. palpalis at different ages to infection with T. congolense. Colloque international sur les techniques du lâcher de mâles stérilisés et l'emploi des rayonnements comme moyen génétique de lutte contre les insectes. Neuherberg, RFA : 29 juin - 3 juillet 1981.
15. ELECE (B.), 1971 - The transmission of Trypanosoma congolense through Glossina morsitans and the white mouse. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 65 : 239.
16. ELECE (B.), 1974 - The development of salivarian trypanosomes in Glossina morsitans and small laboratory mammals. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 68 : 162.
17. FORD (J.), LEGGATE (B.M.), 1961 - The geographical and climatic distribution of trypanosome infection rates in G. morsitans group of tsetse flies. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 55 : 383-397.
18. GATHUO (H.K.W.), NANTULYA (V.M.), GARDINER (P.R.), 1987 - Trypanosoma vivax, adaptation of two East African stocks to laboratory rodents. J. Protozool., 34 (1) : 48-53.
19. GEIGY (R.), KAUFFMAN (M.), DIEHL (P.), 1968 - On the trypanosome infection rate of Glossina morsitans in the Ulanga district (Tanzania). Acta Tropica, 25 : 72-77.
20. GODFREY (D.G.), 1958 - Cyclical transmission of T. dimorphon by G. morsitans. Ann. Rept. W. Afr. Inst. Tryp. Res. : 21.
21. GODFREY (D.G.), 1956 - Diagnosis of trypanosome infections in tsetse flies. Proceedings of the First International Congress of Parasitology in A. Corradetti Ed. Pergamon Press. Oxford : 990-992.
22. GOUTEUX (J.P.), NKOUKA (E.), BISSADIDI (N.), SINDA (D.), VATTIER -BERNARD (G.), TROUILLET (J.), NOIREAU (F.), FREZIL (J.L.), 1987 - Les glossines de l'agglomération Brazzavilloise. II. Taux d'infection et statut alimentaire des populations. Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop., 40 (1) : 59-65.

23. HARLEY (J.M.B.), 1966 - Studies on age and trypanosome infection rates in females of Glossina pallidipes, G. palpalis fuscipes and G. brevipalpis in Uganda. Bull. Ent. Res., 57 : 459-477.
24. HARLEY (J.M.B.), WILSON (A.J.), 1968 - Comparaison between Glossina morsitans, G. pallidipes and G. fuscipes as vectors of trypanosomes of the Trypanosoma congolense group : the proportions infected experimentally and the numbers of infective organisms extruded during feeding. Ann. Trop. Med. Parasitol., 62 n°2 : 178-187.
25. HARLEY (J.M.B.) - The influence of the age of the fly at the time of the infecting feed on infection of Glossina fuscipes with Trypanosoma rhodesiense. Ann. Trop. Med. Parasitol., 65 : 191-196.
26. HOARE (C.A.), 1972 - The trypanosomes of mammals. Blackwell Scientific publications, Oxford and Edinburgh: 749.
27. HULL (R.M.), SWAIN (F.), Mc CABE (W.), JONES (I.W.), CLARKSON (R.J.), 1971 - Adaptation of T. vivax to laboratory animals. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 65 : 14-15.
28. ITARD (J.), 1981 - Les trypanosomoses animales africaines 305-469. In : Précis de Parasitologie vétérinaire tropicale, 1981, IEMVT Ministère de la Coopération et du développement.
29. JORDAN (A.M.), 1965 - The hosts of Glossina as the main factor affecting trypanosome infection rates of tsetse flies in Nigeria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 59, n°4, july 1965.
30. JORDAN (A.M.), 1976 - Tsetse flies as vectors of trypanosomes. Vet. Parasitol. 2 : 143-152.
31. KADDU (J.B.), MUTINGA (M.J.), 1983 - Vector-parasite relationships, the effect of T. (N) congolense on Glossina pallidipes. Ann. Trop. Med. Parasitol., 77 n°3 : 315-320.
32. LANCELOT (R.), 1988 - La trypanosomose bovine à Trypanosoma vivax en Guyane Française. Contribution à l'étude clinique et épidémiologique. Thèse Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil : 119 p.
33. LAPIERRE (J.), TRAN VINH HIEN, 1968 - Etude de divers facteurs influençant le comportement des trypanosomes à basse température. Ann. Parasitol., Hum et Comp., 43 (6) : 629-644.
34. LEEFLANG (P.), BUYS (J.), BLOTKAMP (C.), 1976 - Studies on Trypanosoma vivax : infectivity and serial maintenance of natural bovine isolates in mice. Int. J. Parasitol., 6 : 413-417.

35. LLOYD (L.L.), JOHNSON (W.B.), 1924 - The trypanosome infections of tsetse flies in Northern Nigeria and a method of estimation. *Bull. Ent. Res.*, 14 : 265-268.
36. Mc CABE (W.), CLARKSON (M.J.), 1971 - Tsetse transmission of Trypanosoma vivax. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65 : 259.
37. MOLYNEUX (D.H.), 1980 - Host-trypanosome interactions in *Glossina*. *Insect Sci. Application*, Vol. 1 : 39-46.
38. MOLYNEUX (D.H.), 1980 - Patterns of development of Trypanosomes and related parasites in insect hosts. Proceedings of a FAO/IAEA symposium in Vienna, 7-11 may 1979, IAEA, Vienna 1980.
39. MOLOO (S.K.), 1981 - Effects of maintaining Glossina morsitans morsitans on different hosts upon the vectors subsequent infection rates with pathogenic trypanosomes. *Acta Tropica*, 38 : 125-136.
40. MOLOO (S.K.), 1982 - Studies on transmission of two East Africa stocks of Trypanosoma vivax to cattle, goats, rabbits, rats and mice. *Acta Tropica*, 39 : 283-292.
41. MOLOO (S.K.), 1982 - Studies on the infection rates of a West African stock of Trypanosoma vivax in Glossina morsitans morsitans and G. morsitans centralis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 76 : 335-359.
42. NANTULYA (V.M.), DOYLE (J.J.), JENNI (L.), 1978 - Studies on Trypanosoma (N) congolense. 1. On the morphological appearance of the parasite in the mouse. *Acta Tropica*, 35.
43. NANTULYA (V.M.), DOYLE (J.J.), JENNI (L.), 1978 - Studies on Trypanosoma (N) congolense. 2. Observations on the cyclical transmission of three field isolates by Glossina morsitans morsitans. *Acta Tropica*, 35 : 339-344.
44. NITCHEMAN (S.), 1988 - Comparaison des longévités des glossines (Glossina morsitans morsitans), Westwood, 1850, infectées par les trypanosomes (Trypanosoma Nannomonas congolense Broden, 1904) et des glossines saines. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 63 n°2 : 163-164.
45. OTIENO (L.H.), 1983 - Inadequacy of the dissection method of estimating trypanosome infection rates. *Ann. Trop. Med., Parasitol.* 77 : 329-330.
46. PENCHENIER (L.), ITARD (J.), 1981 - Une nouvelle technique de dissection rapide des glandes salivaires et de l'intestin des glossines. *Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Med. Parasitol.*, 19 : 55-57.

47. ROBERTS (C.J.), GRAY (A.R.), 1972 - A comparison of Glossina morsitans submorsitans and G. tachinoides, collected and maintained under similar conditions, as vectors of T. (N) congolense, T. (N) simiae and T. (D) vivax. Ann. Trop. Med. Parasitol., 66 n°1 : 41-63.
48. ROUBAUD (E.), 1935 - Les modalités atypiques de l'infection trypanosomienne cyclique chez les glossines. Annls. Inst. Pasteur, 55 : 340.
49. ROUBAUD (E.), 1948 - Transmission cyclique à Paris de Trypanosoma congolense par des Glossina palpalis importées du Congo belge : Xenodiagnostic de l'infection transmise. Bull. Soc. Path. Exot., 41 (5-6) : 405-413.
50. RYAN (L.), KUPPER (W.), CROFT (S.L.), MOLYNEUX (D.H.), CLAIR (M.), 1982 - Differences in rate of acquisition of trypanosome infections between Glossina species in the field. Annls. Soc. Belge Med. Trop., 62 : 291-300.
51. STEPHEN, 1986 - Trypanosomiasis a Veterinary approach. Pergamon, Press : 235-329.
52. TAYLOR (A.E.R.), 1968 - Studies on the rodent strain of Trypanosoma vivax. Ann. Trop. Med. Parasitol., 62 : 375-381.
53. UNSWORTH (K.), 1953 - Studies on T. vivax. The maintenance of a strain in mice with observations on the effects of splenectomy. Ann. Trop. Med. Parasitol., 47 : 232-239.
54. VICKERMAN (K.), 1985 - Developmental cycles and biology of pathogenic trypanosomes. British Medical Bulletin. Vol. 41, n°2 : 105-114.
55. WARD (R.A.), BELL (L.H.), 1972 - Susceptibility of Glossina austeni and Glossina morsitans to infection with Trypanosoma congolense. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 66 n°2 : 308.
56. WELLS (E.A.), 1972 - The importance of mechanical transmission in the epidemiology of Nagana : a review. Trop. Anim. Hlth. Prod., 4 (2) : 74-78.
57. WIJERS (D.J.B.), 1958 - Factors that may influence the infection rate of Glossina palpalis with Trypanosoma gambiense. 1. The age of the fly at the time of the infected feed. Ann. Trop. Med. Parasitol., 52 : 385-390.
58. WIJERS (D.J.B.), WILLETT (K.C.), 1960 - Factors that may influence the infection rate of Glossina palpalis with Trypanosoma gambiense. 2. The number and morphology of the trypanosomes present in the blood of the host at the infected feed. Ann. Trop. Med. Parasitol., 54 : 341-350.

59. WILSON (A.J.), DAR (F.K.), WATAKA (B.S.), PARIS (J.), 1969 - A comparison of the transmission efficiency of T. brucei subgroup, T. congolense subgroup and T. vivax subgroup by G. pallidipes, G. brevipalpis, G. fuscipes in East Afr. Trypan. Res. Org. Rep : 78.

60. WOO (P.T.K.), 1969 - The hematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. Can. J. Zool., 47 : 921-923.