

Infection expérimentale de *Glossina morsitans morsitans* (Mall) par *Trypanosoma congolense* (ZRE/G143/90). Cycle du parasite et compétence vectorielle de la glossine

JM Kazadi ^{1*}, P Kageruka ¹, O Martin ¹, B Losson ², J Van Hees ¹

¹ Département de santé animale, Institut de médecine tropicale Prince-Léopold, Nationalestraat 155, B-2000 Anvers 1;

² Service de parasitologie, faculté de médecine vétérinaire, B-43 Sart Tilman, université de Liège, B-4000 Liège, Belgique

(Reçu le 10 juillet 1995; accepté le 14 mai 1996)

Résumé — Les auteurs rapportent les résultats d'une étude expérimentale du cycle évolutif de *Trypanosoma congolense* (ZRE/G143/90) en relation avec la compétence vectorielle de *Glossina morsitans morsitans* (Mall). Le bilan démographique montre que le taux de gorgement au moment du repas infectieux et celui de la mortalité précoce, survenue avant j15, n'ont pas révélé de différence significative entre les mâles et les femelles. Les formes mésocycliques ont été observées régulièrement dans le proventricule, le canal du jabot, l'œsophage, le cibarium et le proboscis, excepté le jabot. À j12 du cycle, les formes épimastigotes prédominaient dans le proboscis. À j13 de la métacyclogenèse, quatre sur six des rats nourriciers (67 %) ont répondu positivement à l'examen du buffy coat. Ces résultats ont mis en exergue la courte période d'incubation du trypanosome chez l'hôte et une compétence vectorielle précoce de certains individus de *G m morsitans* (Mall). Parmi les trois stades du cycle biologique, seule l'atteinte intestinale par les formes procycliques a montré une différence significative entre les sexes : les mâles ont été plus infectés que les femelles. La métacyclogenèse subit trois clivages traduits par l'établissement successif et permanent des formes procycliques, mésocycliques et métacycliques, respectivement dans l'intestin moyen, le proventricule et le proboscis.

compétence vectorielle / cycle / *Glossina morsitans morsitans* / *Trypanosoma congolense* / rat

Summary — Experimental infection of *Glossina morsitans morsitans* (Mall) by *Trypanosoma congolense* (ZRE/G143/90). Cycle of parasite and vectorial competence of the tsetse-fly. This report presents an experimental study of the life cycle of *Trypanosoma congolense* (ZRE/G143/90) in rela-

* Correspondance et tirés à part

tion to the vectorial competence of *Glossina morsitans* (Mall). The rate of engorgement at the time of an infectious meal and the mortality before day 15 of the life cycle were not significantly different between male and female flies. The mesocyclic forms of trypanosomes were regularly observed in the proventriculus, crop duct, oesophagus, cibarium and proboscis, except in the crop. On day 12 of the cycle, epimastigote forms were predominant in the proboscis. On day 13 of metacyclogenesis, four out of six rats (67%) used for feeding the flies were positive for trypanosomes upon buffy coat examination. These results demonstrate the short incubation period of trypanosomes in the vertebrate host and precociousness of the vectorial competence of some individuals of *G m morsitans* (Mall). Among the three cyclic stages, only the procyclic forms in the intestine showed a significant difference between the sexes, the male flies being more infected than the females. Metacyclogenesis undergoes three cleavages leading to the successive and permanent establishment of the procyclic, mesocyclic and metacyclic forms in the midgut, proventriculus and proboscis respectively.

vectorial competence / cycle / *Glossina morsitans morsitans* / *Trypanosoma congolense* / rat

INTRODUCTION

En dehors des mécanismes génétiques et des facteurs extranucléaires d'origine maternelle évoqués par Gooding (1988), des auteurs tels que Duke (1933), Harley et Wilson (1968), Moloo et Kutuza (1988) ont observé une grande variation de susceptibilité de différentes espèces des glossines à l'acquisition de l'infection trypanosomienne. Welburn et al (1994) ont enregistré, chez *Glossina morsitans morsitans*, un taux d'infection de 100 % vis-à-vis d'une souche de *Trypanosoma congolense*, tandis qu'avec le même stock *Glossina palpalis palpalis* montrait rarement des infections mûres.

Cependant, le processus qui préside à la transmissibilité du parasite chez la mouche n'est pas entièrement élucidé. L'objectif de ce travail est l'étude expérimentale du cycle de *T congolense* (ZRE/G143/90) chez *G m morsitans* Mall et l'établissement de sa compétence vectorielle (Le Ray, 1989).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Glossines

G m morsitans Westwood, 1851 utilisée dans cette expérience provient du module d'élevage de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers. C'est

une lignée obtenue à partir d'un croisement de deux souches originaires de Kariba (Zimbabwe) et de Handeni (Tanzanie), dont le qualificatif Mall signifie *Morsitans* allèles (Elsen et al, 1993). Cent-cinquante mouches ténérales de moins de 30 heures, dont 87 femelles et 63 mâles, ont été testées. Elles ont été réparties, selon les sexes, en cages PVC (chlorure de polyvinyle) par groupe de 17 à 20 individus.

Trypanosomes

T congolense (ZRE/G143/90) a été isolé en 1990, sur une chèvre de la localité Agriombe, dans la région du bas Zaïre, au Zaïre. Le stock a subi plusieurs passages mécaniques sur rat, sous l'induction de cyclophosphamide (Endoxan® Asta Medica AG, D-60314 Frankfort, Allemagne), à la dose de 80 mg/kg PV et a été ensuite cryopréservé dans l'azote liquide à -196°C , en présence de diméthylsulfoxyde. La transmission cyclopropagative du trypanosome a été réalisée par *G m morsitans* successivement sur rat et sur bovin, à partir duquel le stabilat a été constitué sous le code ITMAV 200794.

Rats

Tous les rats utilisés ($n = 8$) sont des Wistar albinos, issus des élevages de la firme Janssen Pharmaceutica (B-2340 Beerse, Belgique). Ils ont été nourris avec des concentrés de Pavan service (Goordijk, 10 B-2360 Oud-Turnhout, Belgique) et abreuvés ad libitum.

Deux rats ont été inoculés, par voie intrapéritonéale, avec une dose de 0,5 mL du stabilat titrant l'antilog 7,8 selon l'échelle de Herbert et Lumsden (1976). Le suivi parasitémique des rats infectés a été évalué par examen à frais, au microscope à contraste de phase (x 400). Ce contrôle a été effectué également au moment du repas infectieux des mouches.

Repas infectieux

Les mouches ténérales ont été appâtées, une seule fois, sur un rat parasitémique (antilog 7,8-8,1), anesthésié préalablement au pentobarbital sodique (Nembutal[®], Ceva, 1030 Bruxelles, Belgique), à la dose de 30 mg/kg PV et couché en position de décubitus dorsal. Au moment du repas infectieux, deux cages des glossines des deux sexes ont été posées simultanément, pendant 20 minutes, sur les flancs du même rat.

Sélection des mouches gorgées

La séparation des mouches gorgées ou non a été faite après une anesthésie de 3 minutes réalisée sous une cloche renfermant une atmosphère d'azote. Celle-ci a été fournie par une bonbonne surmontée d'un manomètre et distribuant une pression d'alimentation de 200 bar réglée par une vanne.

Le critère objectif de gorgement a été basé sur la présence de sang dans l'abdomen des glossines.

Repas d'entretien et maintenance

Les mouches gorgées ont été maintenues pendant 25 jours dans un local de transmission cyclique où régnait une température de 25 ± 5 °C et 70 ± 5 % d'humidité relative avec alternance automatique de 12 heures de lumière artificielle-obscurité.

Après un jeûne de 24 heures consécutif au repas infectieux, les repas d'entretien ont été assurés, en nourrissant les glossines pendant 10 minutes, à intervalles de 24 heures sur six rats sains. Une rotation régulière a été observée entre les rats nourriciers. À partir de j10, ceux-ci

ont été examinés par la méthode de buffy coat (Murray et al, 1977) afin de déterminer la parasitémie subpatente.

Dissection des mouches et compétence vectorielle

À partir de j25, les mouches ont été disséquées suivant le protocole de dissection du tractus digestif décrit par Kazadi et al (1994). Le proboscis a été extirpé, à la base de son bulbe thécale, à l'aide d'une pincette courbe. Les mouches mortes précocement ont été également disséquées.

L'observation microscopique a porté sur l'intestin moyen, le proventricule, le jabot et le proboscis. Des portions du canal du jabot et de l'œsophage se rattachant au proventricule ont été examinées pour détecter la présence ou l'absence des trypanosomes.

La compétence vectorielle (CV) a été calculée selon la formule de Le Ray (1989) : $CV = p \times m$ avec l'indice procyclique $p = n'/n$, où n' est le nombre des glossines infectées dans l'intestin moyen sur n , nombre total des mouches disséquées ; et avec l'indice métacyclique $m = n''/ni'$ où n'' correspond au nombre des mouches infectées dans le proboscis sur n' , nombre des individus porteurs des infections intestinales.

Analyse statistique

L'influence du sexe sur les taux de gorgement, de mortalité, le taux d'infection et les indices de la compétence vectorielle a été analysée suivant le test χ^2 de Pearson.

RÉSULTATS

Bilan démographique

Taux de gorgement

L'analyse statistique (tableau I) des données n'a pas révélé de différence significative entre les mâles et femelles au moment de ce repas. Le gorgement a été suivi sou-

Tableau I. Bilan démographique de *G m morsitans* (Mall).

	Sexe		Signification statistique
	Mâle	Femelle	
Taux de gorgement (%)			
Gorgées	54 (86)	76 (87)	NS
Non gorgées	9 (14)	11 (13)	NS
Taux de mortalité (%) ^a			
Mortes	12 (22)	8 (11)	NS
Survivantes	42 (78)	68 (89)	NS
Taux d'infection du tractus digestif (%)			
Stade procyclique	34 (81)	40 (59)	P < 0,02
Stade mésocyclique	28 (66)	38 (56)	NS
Stade métacyclique	23 (55)	30 (44)	NS

^a Avant 15 jours.

vent d'une abondante excrétion liquidienne par l'anus, dont l'aspect est clair au début et verdâtre à la fin de digestion.

Taux de mortalité

Aucune différence significative de ce taux n'a été observé entre les mâles et femelles (tableau I). Chez six mouches mortes précocement entre j7 et j15, on a noté une hypertrophie de glandes salivaires, accompagnée parfois de la présence d'agrégats des érythrocytes. Ceux-ci sont restés confinés dans la lumière de la portion effilée de ces glandes (fig 1). Quatorze mouches mortes précocement entre j4 et j13 ont montré le ballonnement de l'abdomen marqué par une coloration foncée. Leur dissection a révélé la présence des cristaux microscopiques de forme pyramidale ou tétraédrique.

Taux d'infection du tractus digestif

Sur 110 mouches disséquées, 36 individus (33 %), dont 28 femelles et 8 mâles sont restées réfractaires à l'infection. On a observé une baisse de la densité de la



Fig 1. Présence des érythrocytes dans la lumière des glandes salivaires de *G m morsitans* (Mall).

population des formes métacycliques par rapport à celle du complexe mésoprocyclique. La diminution de la densité de ces formes a été nettement plus prononcée chez les mâles que chez les femelles (tableau I).

L'atteinte intestinale par les formes procycliques a révélé une différence significative entre les sexes ($\chi^2 = 5,77$; $p = 0,016$) : les mâles ont été plus infectés que les femelles.

Au niveau du proventricule (fig 2), on n'a pas enregistré de différence significative du taux d'infection mésocyclique entre les deux sexes.

Le taux d'infection métacyclique observé dans le proboscis n'a pas révélé de différence significative entre les mâles et femelles.

Cycle biologique du trypanosome chez la mouche

Les trois sites de localisations parasites ont été observés, par ordre croissant, dans l'intestin moyen, le proventricule et le proboscis. L'infection demeurait permanente dans chaque site.

La colonisation de l'espace ectopéritro- phique de l'intestin a été traduite par l'établissement de trypanosomes sanguicoles qui se transforment en formes procycliques multiplicatrices. Cet établissement a été observé à j4 chez les glossines, des deux sexes, mortes précocement.

Les formes mésocycliques, en phase migratoire, ont été observées régulièrement dans les portions de l'œsophage (fig 3) et le canal du jabot, mais non dans le jabot. Elles ont été rencontrées fréquemment dans le cibarium et la portion labiale du proboscis, à

côté des formes métacycliques. D'autres formes apparentées aux trypomastigotes, tels que les amastigotes et épimastigotes, ont été observées souvent dans le proventricule et le proboscis.

À partir de j12 de la métacyclogenèse, l'examen microscopique du proboscis a montré la prédominance des formes épimastigotes. Celles-ci ont été regroupées par essaim et attachées par leur flagelle aux parois du labium. Leur corps fusiforme frétilait et exécutait des mouvements pendulaires assez rapides.

Les formes amastigotes ont été plus petites que les épimastigotes ; ovoïdes ou piriformes, elles apparaissaient en relief sur les parois de labium. À l'état libre, l'une de leurs extrémités laissait apparaître un flagelle vestigial très fin. On notera que trois glossines ont montré à la dissection une faible densité de formes procycliques sans infection du proventricule, tandis que cinq mouches ont été infectées par des formes procycliques et métacycliques sans association de formes mésocycliques.

Compétence vectorielle

Les valeurs de la CV n'ont pas révélé de différence significative entre les mâles et femelles (tableau II). La CV semble mon-

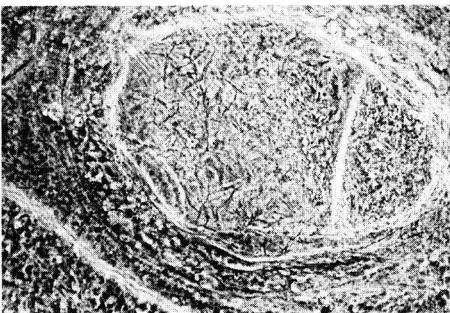


Fig 2. Présence des formes mésocycliques dans la lumière du ventricule de *G m morsitans*.

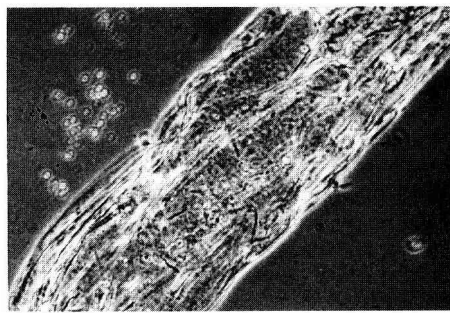


Fig 3. Des formes mésocycliques en migration dans l'œsophage de *G m morsitans* (Mall).

Tableau II. Compétence vectorielle de *G m morsitans* (Mall).

Bilan parasitologique	Sexe		Total
	Femelle	Mâle	
<i>n</i>	68	42	110
<i>n'</i>	40	34	74
<i>p</i>	0,5882	0,8095	0,6727
<i>n''</i>	30	23	53
<i>m</i>	0,7500	0,6764	0,7162
CV	0,4411	0,5476	0,4818

n = nombre de mouches disséquées ; *n'* = nombre de mouches avec infections procycliques ; *n''* = nombre de mouches avec infections métacycliques ; *p* = indice procyclique ie, n'/n ; *m* = indice métacyclique ie, n''/n' ; CV = $p \times m$.

trer une double transformation du parasite chez la mouche : morphologique, en formes procycliques et mésocycliques, et biologique, en formes métacycliques.

Transmission de l'infection chez le rat

Sur six rats utilisés pour l'entretien des mouches, quatre (67 %) se sont révélés positifs par la technique du buffy coat à j13. Ces résultats indiquent que la période d'incubation des trypanosomes chez les animaux est légèrement inférieure à 2 semaines. En outre, ils montrent que certains individus de *G m morsitans* (Mall) accusent une compétence vectorielle précoce.

DISCUSSION

Dans leurs travaux, la plupart des auteurs, notamment Otieno (1983), Maudlin et al (1986), Mehlitz et Tietjen (1988), Moloo et Shaw (1989), Maudlin et Welburn (1994), ne signalent que deux stades de développement du trypanosome chez la glossine : l'intestin moyen (phase d'invasion) et le pro-

boscis ou les glandes salivaires (phase de maturation). Les résultats obtenus dans ce travail mettent en évidence le stade proventriculaire (= mésocyclique) qui se situe entre ces deux sites. À ce sujet, ils confirment les observations de Taylor (1932), Sicé (1937), Steiger (1973), Gingrich et al (1982) sur les sites de prédilection du trypanosome chez le vecteur.

Les implications des formes mésocycliques dans les maillons de la chaîne cyclique ont été ignorées longtemps, probablement, à cause de la difficulté d'exploration du proventricule. À cet égard, Kazadi et al (1994) ont décrit une nouvelle technique de l'amélioration de dissection du tractus digestif, y compris l'extirpation du proventricule chez la mouche.

Des formes mésocycliques ont été observées régulièrement dans la lumière et l'espace ectopéritrophique du proventricule auquel elles semblent particulièrement adaptées (Sicé, 1937). Leur persistance dans ce site est en faveur de leur multiplication. Les formes mésocycliques accusent une évolution morphologique distincte des formes procycliques. Elles sont plus développées que ces dernières. Leur membrane ondulante est présente, mais peu visible.

D'après nos observations, il semble exister une corrélation entre l'établissement des trypanosomes au niveau de l'intestin moyen (formes procycliques) et du proventricule (formes mésocycliques) ; toutefois, il s'avère nécessaire de préciser la période de cet établissement dans les deux sites. L'écart du taux d'infection observé entre ces deux formes paraît fortuit. Il serait dû au laps de temps assez long mis avant l'observation microscopique, permettant aux parasites de s'extruder complètement du proventricule. Cependant, la densité de la population des premières formes semble plus élevée que celle des secondes.

Pour leur côté, Robertson (1913) et Sicé (1937) signalent l'instabilité des trypanosomes dans le proventricule où ils ne maintiennent leurs positions qu'à la condition que leur hôte ne soit pas exposé à un jeûne trop prolongé.

Au-delà des éléments environnementaux de type alimentaire, Maudlin (1982) et Maudlin et Dukes (1985) affirment que des facteurs maternels d'héritabilité et les lectines régissent le niveau d'infection de l'intestin moyen, le principal facteur de contrôle de la compétence vectorielle.

Les facteurs susceptibles d'influencer ou limiter l'établissement des infections intestinales chez la glossine ont été discutés par Maudlin et Dukes (1985), Maudlin et Welburn (1987), Welburn et al (1993). Le caractère réfractaire peut se manifester, selon Gooding (1988), au niveau de plusieurs étapes du développement chez le vecteur, dont deux types fondamentaux de résistance, les résistances active et passive, pourraient l'une et l'autre expliquer ce phénomène.

Le taux d'infection métacyclique a atteint 44 % chez les femelles et 55 % chez les mâles. L'analyse statistique de ces données n'a pas révélé de différence significative entre les deux sexes. En utilisant une souche de *T congolense*, les résultats de

Mwangelwa et al (1987), Maudlin et Welburn (1994) montrent une plus grande réceptivité des femelles de *G m morsitans* à l'infection intestinale que des mâles. En revanche, ceux-ci produisent une plus grande proportion d'infections métacycliques que leurs congénères femelles.

L'indice de la CV obtenu dans ce travail est nettement supérieur à celui de Distelmans et al (1985) qui ont évalué la susceptibilité du mutant de l'œil SALMON de *G m morsitans* sur cobaye infecté par *T congolense* TORORO/69/EATRO/1157. Malgré la différence des résultats, on observe que *G m morsitans* (Mall) et son mutant génétique conservent leur compétence vectorielle.

Nous avons détecté la présence des trypanomastigotes dans le canal du jabot, l'œsophage, le cibarium et le proboscis des mouches infectées. Chez ces dernières, le parasite semble évoluer d'un stade à un autre et reste inféodé à chaque site. Cette observation confirme la voie cyclique des trypanosomes décrite par Taylor (1932), Yorke et al (1933), Buxton (1955), Lewis et Langridge (1947), Fairbairn (1958), et montre que le développement cyclique suit une évolution ascendante.

La susceptibilité des jeunes mouches à l'infection trypanosomienne a été observée par plusieurs auteurs, notamment Wijers (1958), Willet (1966), Harley (1971) et Makumyaviri (1987) qui ont montré que le premier repas infectieux pris dans les 30 heures après émergence a de plus grandes chances de produire des infections cycliques que les repas tardifs.

Si la tranche d'âge inférieure à 30 heures est une condition sine qua non à l'acquisition de l'infection, elle ne suffit pas si elle n'est pas associée à la déplétion des glossines. Harmsen (1973) affirme que la consommation des réserves alimentaires affecte la mouche en la contraignant à se gorger tôt pendant sa vie adulte.

La compétence vectorielle de *G m morsitans* (Mall) vis-à-vis de *T congolense* ZRE/G143/90 a révélé, pour les deux sexes, un indice global de 0,4818. Sur les trois stades du développement parasitaire, seule l'atteinte intestinale a montré que les mâles étaient significativement plus infectés que les femelles. Il semble exister une corrélation entre la présence des formes procycliques et mésocycliques.

Chez les mouches de *G m morsitans* (Mall) infectées par *T congolense* ZRE/G143/90, la métacyclo-genèse se traduit par une colonisation successive et permanente de l'intestin moyen, le proventricule et le proboscis.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu financièrement par l'AGCD (Administration générale de la coopération au développement ; gouvernement belge). Les auteurs adressent leur remerciement à S Geerts pour ses conseils et ses remarques lors de la rédaction de ce manuscrit. Ils remercient également G Torreelle pour l'analyse statistique des données.

RÉFÉRENCES

- Buxton PA (1955) *The Natural History of Tsetse Flies* (Memoir No 10 of the London School of Hygiene and Tropical Medicine), HK Lewis and Co Ltd, Londres
- Distelmans W, Makumyaviri AM, D'haeseleer F, Claes Y, Le Ray D, Gooding RH (1985) Influence of the salmon mutant of *Glossina morsitans morsitans* on the susceptibility to infection with *Trypanosoma congolense*. *Acta Tropica* 42, 143-148
- Duke HL (1933) Studies on the factors that may influence the transmission of the polymorphic trypanosomes by tsetse. III. *Glossina morsitans* versus *Glossina palpalis* as a transmitter of the polymorphic group of trypanosomes. *Ann Trop Med Parasitol* 27, 123-130
- Elsen P, Van Hees J, De Lil E (1993) L'histoire et les conditions d'élevage des lignées de glossines (Diptera, Glossinidae) maintenues à l'Institut de médecine tropicale Prince-Léopold d'Anvers. *J Afr Zool* 107, 439-449
- Fairbairn H (1958) The penetration of *Trypanosoma rhodesiense* through the peritrophic membrane of *Glossina palpalis*. *Ann Trop Med Parasitol* 52, 18-19
- Gingrich JB, Ward RA, Macken LM, Schoenbechler (1982) *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Trypanosomatidae): factors influencing infection rates of a recent human isolate in the tsetse *Glossina morsitans* (Diptera: Glossinidae). *J Med Entomol* 3, 268-274
- Gooding RH (1988) Héritabilité de la capacité vectorielle chez les insectes hématophages. *Ann Méd Vét* 132, 521-532
- Harley JMB (1971) The influence of age of the fly at the time of infecting feed on infection of *Glossina fuscipes* with *Trypanosoma rhodesiense*. *Ann Trop Med Parasitol* 65, 191-196
- Harley JMB, Wilson AJ (1968) Comparison between *Glossina morsitans*, *G pallidipes* and *G fuscipes* as vectors of trypanosomes of *Trypanosoma congolense* group. *Ann Trop Med Parasitol* 62, 178-187
- Harmsen R (1973) The nature of the establishment barrier for *Trypanosoma brucei* in the gut of *Glossina pallidipes*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 67, 364-373
- Herbert WJ, Lumsden WHR (1976) *Trypanosoma brucei*: a "matching" method for estimating the host parasitaemia. *Exp Parasitol* 40, 427-431
- Kazadi JML, Elsen P, Jochems M, Van Hees J, Van den Abbeele, Kageruka P (1994) Amélioration de la technique de dissection du tractus digestif et des glandes salivaires des glossines pour la mise en évidence des divers stades de développement des trypanosomes. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* 47, 89-92
- Le Ray D (1989) Vector susceptibility to African trypanosomes. *Ann Soc Belge Méd Trop* 69 (suppl 1) 165-171
- Lewis EA, Langridge WP (1947) Developmental forms of *Trypanosoma brucei* in the saliva of *Glossina pallidipes* and *Glossina austeni*. *Ann Trop Med Parasitol* 41, 6-13
- Makumyaviri MA (1987) Contribution à l'étude de la trypanotolérance. I. Mise au point d'un modèle d'infection par trypanosomes métacycliques. II. Évaluation des paramètres cliniques, histologiques et immunocytologiques au cours de l'infection. Thèse doct, Vrije Universiteit Brussel
- Maudlin I (1982) Inheritance of susceptibility to *Trypanosoma congolense* infection in *Glossina morsitans*. *Ann Trop Med Parasitol* 76, 225-227
- Maudlin I, Dukes P (1985) Extrachromosomal inheritance of susceptibility to trypanosome infection in tsetse flies. I. Selection of susceptible and refractory lines of *Glossina morsitans morsitans*. *Ann Trop Med Parasitol* 79, 317-324
- Maudlin I, Welburn SC (1987) Lectin-mediated establishment of midgut infections of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* in *Glossina morsitans*. *Trop Med Parasitol* 38, 167-170

- Maudlin I, Dukes P, Luckins AG, Hudson KM (1986) Extrachromosomal inheritance of susceptibility to trypanosome infection in tsetse flies. II. Susceptibility of selected lines of *Glossina morsitans morsitans* to different stocks and species of trypanosome. *Ann Trop Med Parasitol* 80, 97-105
- Maudlin I, Welburn SC (1994) Minireview: Maturation of *Trypanosoma* infections in Tsetse. *Exp Parasitol* 79, 202-205
- Mehlitz D, Tietjen U (1988) Trypanosome infections rates in tsetse midguts using a short-term in vitro culture technique. *Acta Tropica* 45, 183-184
- Moloo SK, Kutuza SB (1988) Comparative infections rates of different laboratory strains of *Glossina* species by *Trypanosoma congolense*. *Med Vet Entomol* 2, 253-257
- Moloo SK, Shaw MK (1989) Rickettsial infections of midgut cells are not associated with susceptibility of *Glossina morsitans centralis* to *Trypanosoma congolense* infection. *Acta Tropica* 46, 223-227
- Murray M, Murray PK, McIntyre WIM (1977) An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 71, 325 - 326
- Mwangelwa MI, Otieno LH, Reid GDF (1987) Some barriers to *Trypanosoma congolense* development in *Glossina morsitans morsitans*. *Insect Sci Applic* 8, 33-37
- Otieno LH (1983) Inadequacy of dissection as a method of estimating trypanosome infection rates. *Ann Trop Med Parasitol* 77, 329- 330
- Sicé A (1937) *La trypanosomiase humaine en Afrique intertropicale*. Vigot Frères, Paris
- Robertson M (1913) Notes on the life history of *Trypanosoma gambiense* with a brief reference to the cycles of *Tryp nanum* and *T pecorum* in *Gl palpalis*. Reports of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society 13, 119
- Steiger RF (1973) On the ultrastructure of *Trypanosoma (Trypanozoon) brucei* in the course of its life cycle and some related aspects. *Acta Tropica* 30, 65-168
- Taylor AW (1932) The development of West African strains of *Trypanosoma gambiense* in *Glossina tachinoides* under normal laboratory conditions and at raised temperatures. *Parasitology* 24, 401-418
- Welburn SC, Arnold K, Maudlin I, Goodday GW (1993) Rickettsia-like organisms and chitinase production in relation to transmission of trypanosomes by tsetse flies. *Parasitology* 107, 141-145
- Welburn SC, Maudlin I, Molyneux DH (1994) Midgut lectin activity and sugar specificity in teneral and fed tsetse. *Med Vet Entomol* 8, 81-87
- Wijers DJB (1958) Factors that may influence the infection rate of *Glossina palpalis* with *Trypanosoma gambiense*. I. The age of the fly at the time of the infected feed. *Ann Trop Med Parasitol* 52, 385-390
- Willet KC (1966) Development of the peritrophic membrane in *Glossina* (tsetse flies) and its relation to infection with trypanosomes. *Exp Parasitol* 18, 290-095
- Yorke W, Murgatroyd F, Hawking F (1933) The relation of polymorphic trypanosomes developing in the gut of *Glossina* to the peritrophic membrane. *Ann Trop Med Parasitol* 27, 347-350