

Influence du nombre de repas sains antérieurs au repas infectieux sur la compétence vectorielle de *Glossina morsitans morsitans* infectée par *Trypanosoma congolense* IL 1180

Jean-Marie Kazadi^{a, b*}, Pasteur Kageruka^a, Bertrand Losson^b

^a Institut de médecine tropicale Prince Léopold, département de santé animale,
Nationalestraat 155, 2000 Anvers 1, Belgique

^b Service de parasitologie, faculté de médecine vétérinaire, B-43, Sart-Tilman,
Université de Liège, 4000 Liège, Belgique

(Reçu le 22 avril 1998 ; accepté le 17 décembre 1998)

Abstract – The influence of a healthy meal prior to an infectious meal on the vectorial competence of *Glossina morsitans morsitans* infected by *Trypanosoma congolense* IL 1180. The purpose of this work was to assess the influence of several healthy meals (0, 1 and 2) prior to the infectious one on the vectorial competence of *Glossina morsitans morsitans* (Mall). The teneral flies (< 32 h old) of this line were divided into three groups. The tsetse flies of group A received no meal. The ones of group B received one healthy meal on day 1, whereas those from group C were given two consecutive healthy meals on days 1 and 2. All the flies were experimentally infected with *Trypanosoma congolense* IL 1180 when the maximum age reached 32 h for flies with no meal, 56 h for those with one healthy meal and 80 h for those who received two healthy meals. When both sexes were considered, the meso-procyclic and metacyclic indexes as well as the vectorial competence (VC) of the flies receiving no meal were 0.99 ± 0.01 , 0.96 ± 0.02 and 0.95 ± 0.03 . Considering the flies which were fed one healthy meal, the respective values were 0.42 ± 0.13 , 0.50 ± 0.01 and 0.21 ± 0.06 , whereas the values for the flies receiving two healthy meals were 0.45 ± 0.11 , 0.29 ± 0.19 and 0.13 ± 0.05 . The meso-procyclic and metacyclic indexes as well as the VC in both sexes were more important in the flies which received no meal than those fed with one or two healthy meals. The meso-procyclic and metacyclic indexes and VC did not show any significant differences between the flies fed one or two healthy meals, whereas the metacyclic index of male flies which received one healthy meal was significantly higher than those fed two healthy meals. These results indicate that the number of non-infected (healthy) meals prior to an infected meal reduces the interaction between *G. m. morsitans* infected and *T. congolense*. © Inra/Elsevier, Paris.

healthy meal / infected meal / teneral flies / vectorial competence

* Correspondance et tirés-à-part

Tél. : (32) 03 247 62 71 ; fax : (32) 03 216 14 31 ; e-mail : jmkazadi@hotmail.com

Résumé – Ce travail a pour but d'évaluer l'influence de plusieurs repas sains (0, 1 et 2) antérieurs au repas infectieux sur la compétence vectorielle de *Glossina morsitans morsitans* (souche Mall). Les mouches ténérales (âge < 32 h) de cette espèce ont été réparties en trois groupes : les individus du groupe A ont reçu 0 repas. Ceux du groupe B ont reçu un repas sain le jour 1, tandis que ceux du groupe C ont eu droit, les jours 1 et 2, à deux repas sains consécutifs. Toutes les mouches ont été infectées expérimentalement par *Trypanosoma congolense* IL 1180, lorsque l'âge maximal a atteint 32 h chez les mouches ayant reçu 0 repas, 56 h chez les sujets ayant pris un repas sain et 80 h, chez les individus ayant reçu deux repas sains. Sexes confondus, les indices méso-procyclique et métacyclique ainsi que la compétence vectorielle (CV) des mouches ayant reçu 0 repas ont atteint une valeur respective de $0,99 \pm 0,01$; $0,96 \pm 0,02$ et $0,95 \pm 0,03$. Chez les mouches ayant reçu un repas sain, les indices méso-procyclique et métacyclique et la CV ont atteint une valeur respective de $0,42 \pm 0,13$; $0,50 \pm 0,01$ et $0,21 \pm 0,06$. En revanche, chez les mouches ayant reçu deux repas sains, les indices méso-procyclique, métacyclique et la CV ont été évalués, respectivement à $0,45 \pm 0,11$; $0,29 \pm 0,19$ et $0,13 \pm 0,05$. Sexes confondus, les indices méso-procyclique et métacyclique et la CV des mouches ayant reçu 0 repas ont été plus importants que ceux des mouches ayant pris un ou deux repas sains. Aucune différence significative d'indice méso-procyclique ni de CV n'a été observée entre les mouches ayant reçu un ou deux repas sains. Au contraire, l'indice métacyclique des mâles ayant reçu un repas était plus élevé que celui des mâles ayant reçu deux repas sains. Ces résultats indiquent que le nombre des repas non infectieux antérieurs au repas infectieux réduit l'interaction entre *G. m. morsitans* (Mall) et *T. congolense*. © Inra/Elsevier, Paris.

repas sains / repas infectieux / mouches non ténérales / compétence vectorielle

1. INTRODUCTION

L'établissement des trypanosomes pathogènes africains chez la mouche tsé-tsé est influencé par des facteurs non élucidés inhérents à l'hôte, au parasite et à la glossine [14, 16]. Ces facteurs déterminent séparément ou conjointement la compétence vectorielle (CV) de ce diptère.

La transmission cyclique des trypanosomes des sous-genres *Trypanozoon* ou *Nannomonas* nécessite des conditions optimales pour sa réalisation. Une de ces conditions exige que les mouches soient infectées dès que possible après leur éclosion [14, 22]. Toutefois, l'influence du sexe sur la CV des glossines reste un sujet très controversé [13, 17, 20].

L'objectif du présent travail est donc d'étudier, comparativement à zéro repas sain, l'influence d'un ou de deux repas sains antérieurs au repas infectieux, sur la sensibilité ultérieure des mouches mâles et femelles de *Glossina morsitans morsitans* (souche Mall) infectées par *Trypanosoma congolense* IL 1180.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Trypanosomes

Trypanosoma (Nannomonas) congolense IL 1180 est une souche clonale dérivée du stock « savannah » L 209 qui a été isolé à partir du sang d'un lion du parc de Serengeti, en Tanzanie [7]. Le stabilat utilisé a été identifié sous le code ITMAV 101195.

2.2. Glossines

Les mouches ténérales ($n = 530$) de *Glossina morsitans morsitans* (souche Mall), âgées de moins de 32 h, ont été utilisées. L'historique et le mode d'élevage de cette lignée ont été décrits par Elsen et al. [4].

2.3. Animaux

Quatorze rats femelles, de souche Wistar albino, pesant ± 200 g, ont été utilisées. Deux d'entre elles ont été inoculées mécaniquement par voie intrapéritonéale (*i.p.*) avec 0,5 mL de cryostabilat de *T. congolense* IL 1180. Cette dose titrait l'antilog 7,8 selon la *matching method*

d'Herbert et Lumsden [10]. Tous les animaux ont reçu un aliment commercial de Pavan service (Goordijk, 10 B-2360 Oud-Turnhout, Belgique) et ont été abreuvés ad libitum.

2.4. Modalités d'infection

À l'éclosion, les mouches ténéales ont été mises en cage suivant le sexe, puis subdivisées en trois groupes. Les mouches du groupe A ($n = 176$) n'ont reçu aucun repas sain antérieur au repas infectieux. Les individus du groupe B ($n = 174$) ont reçu à J_1 , un repas initial sur rat indemne. Ceux du groupe C ($n = 180$) ont pris deux repas sains consécutifs, à J_1 et J_2 , sur rat indemne. Les mouches du groupe A ont été nourries sur un rat préalablement anesthésié [12] révélant une parasitémie d'antilog 8,1, soit 125.10^6 trypanosomes mL^{-1} de sang. Après une diète de 24 h, les mouches des groupes B et C ont atteint un âge maximal de 56 et 80 h et ont été nourries sur un autre rat montrant une parasitémie d'antilog 8,1.

Les mouches gorgées au cours de ce repas ont été séparées des non gorgées qui ont été écartées de l'expérience.

2.5. Entretien

Les glossines ont été gardées pendant 20 j dans un local de transmissions cycliques maintenu à une température moyenne de $25 \pm 0,5$ °C et 75 ± 5 % d'hygrométrie et muni d'un système automatique permettant un éclaircissement de 12 h par jour.

Les mouches des trois groupes ont été entretenues séparément sur des hôtes nourriciers indemnes ($n = 12$), répartis en trois lots. Une rotation régulière a été assurée chez ces animaux. À partir de J_6 , l'examen du *buffy coat* [19] a été utilisé pour dépister d'éventuelles infections subpatentes des rats. Les animaux qui se sont révélés infectés ont été remplacés par des sujets sains.

2.6. Dissection

Les mouches ont été soumises à une diète de 48 h, puis disséquées à J_{20} suivant la technique de dissection proposée par Kazadi et al. [11]. L'intestin moyen, le proventricule et le proboscis ont été examinés séparément. Les prépara-

tions ont été observées au microscope (Olympus CH 2) à contraste de phase et à un grossissement de 400.

2.7. Compétence vectorielle et analyse statistique

La compétence vectorielle (CV) a été calculée selon la formule de Le Ray [15] améliorée par Kazadi et al. [12].

$CV = p \times m$ dans laquelle :

- l'indice méso-procyclique $p = n'/n$ avec n' : nombre de glossines infectées au stade méso-procyclique et n : nombre de sujets disséqués ;
- l'indice métacyclique $m = n''/n'$ avec n'' : nombre de mouches infectées au stade métacyclique et n' : nombre d'individus infectés au stade méso-procyclique.

Ces indices ont été analysés, entre les trois groupes et au sein d'un même groupe, suivant le test du Chi-carré de Pearson.

3. RÉSULTATS

3.1. Bilan démographique (tableau I)

3.1.1. Gorgement au moment du repas infectieux

Le taux de gorgement global des mouches ayant reçu 0 repas (groupe A) a été de 93 % ($n = 194/209$). Ce taux a atteint 91 ($n = 158/174$) et 98 % ($n = 176/180$), respectivement chez les individus ayant reçu un (groupe B) ou deux repas sains (groupe C). Dans chaque groupe, on n'observe aucune différence significative du taux de gorgement entre les sexes.

Les mâles des trois groupes n'ont pas révélé de différence significative du taux de gorgement. Aucune différence significative de gorgement n'a été détectée entre les femelles ayant reçu 0 et un repas sain. En revanche, les femelles ayant pris deux repas sains se sont plus gorgées que celles ayant reçu 0 ($\chi^2 = 4,08$; $p < 0,05$) ou un repas sain ($\chi^2 = 7,74$; $p < 0,01$) avant l'infection.

Tableau I. Bilans entomologique et parasitologique des mouches non ténérales de *G. m. morsitans* (souche Mall) ayant reçu 0, un ou deux repas sains antérieurs au repas infectieux.

Groupe	Nombre de repas sains avant le repas infectieux									
	A (0 repas : 32 h âge max.)			B (1 repas sain : 56 h âge max.)			C (2 repas sains : 80 h âge max.)			
	Mâle (98)	Femelle (111)	Total (209)	Mâle (84)	Femelle (90)	Total (174)	Mâle (90)	Femelle (90)	Total (180)	Total (180)
Gorgées (%)	93 (95)	101 (91)	194 (93)	80 (95)	78 (87)	158 (91)	88 (98)	88 (98)	176 (98)	
Mortes (%)	12 (13)	6 (6)	18 (9)	7 (9)	10 (13)	17 (11)	9 (11)	3 (4)	12 (7)	
Disséminés (n)	81	95	176	73	68	141	79	85	164	
n'	81	94	175	37	22	59	46	28	74	
p	1 ± 0,00	0,99 ± 0,02	0,99 ± 0,01	0,51 ± 0,16	0,32 ± 0,19	0,42 ± 0,13	0,58 ± 0,14	0,33 ± 0,17	0,45 ± 0,11	
n''	77	91	168	22	8	30	16	6	22	
m	0,95 ± 0,04	0,97 ± 0,03	0,96 ± 0,02	0,59 ± 0,02	0,36 ± 0,03	0,50 ± 0,01	0,34 ± 0,23	0,21 ± 0,29	0,29 ± 0,19	
CV	0,95 ± 0,04	0,96 ± 0,03	0,95 ± 0,03	0,30 ± 0,10	0,11 ± 0,07	0,21 ± 0,06	0,21 ± 0,08	0,07 ± 0,02	0,13 ± 0,05	

(N) = nombre de mouches examinées ; p = n'/n avec n' proportion de mouches infectées au stade méso-procyclique et n nombre de sujets disséqués ; m = n''/n avec n'' nombre de glossines infectées au stade métacyclique et n' nombre d'individus infectés au stade méso-procyclique ; CV = p × m ou n''/n.

Sexes confondus, aucune différence significative de gorgement n'a été détectée entre les mouches ayant reçu 0 et un repas sain avant l'infection. Des mouches ayant reçu deux repas sains ont été plus gorgées que celles ayant pris 0 ($\chi^2 = 5,11$; $p < 0,05$) ou un repas sain ($\chi^2 = 8,07$; $p < 0,01$).

3.1.2. Mortalité précoce

Le taux de mortalité précoce globale (de J_1 à J_{10}) des mouches ayant reçu 0, un et deux repas sains a atteint respectivement 9 ($n = 18/194$), 11 ($n = 17/158$) et 7 % ($n = 12/176$). Aucune différence significative du taux de mortalité n'a été détectée au sein de chaque groupe ni entre les trois groupes de mouches. Toutefois, on enregistre un taux de mortalité plus élevé ($\chi^2 = 5,07$; $p < 0,05$) chez les femelles ayant reçu deux qu'un repas sain avant l'infection. Sexes confondus, aucune différence significative de mortalité n'a été trouvée entre les mouches des trois groupes.

3.2. Bilan parasitologique (tableau 1)

3.2.1. Indice méso-procyclique

Aucune différence significative d'indice méso-procyclique n'a été détectée entre les mâles et les femelles ayant reçu 0 repas avant l'infection. Toutefois, les mâles ayant reçu un ($\chi^2 = 4,86$; $p < 0,05$) ou deux repas sains ($\chi^2 = 10,57$; $p < 0,01$) ont été plus infectés que leurs congénères femelles.

Les mâles ayant reçu 0 repas se sont plus infectés que ceux ayant reçu un ($\chi^2 = 52,13$; $p < 0,001$) ou 2 ($\chi^2 = 42,63$; $p < 0,001$) repas sains. Aucune différence significative d'indice méso-procyclique n'a été observée entre les mâles ayant pris un ou deux repas sains avant l'infection.

Les femelles ayant reçu 0 repas ont été plus infectées que celles ayant pris un ($\chi^2 = 85,65$; $p < 0,001$) ou deux ($\chi^2 = 89,49$; $p < 0,001$) repas sains. Aucune différence significative d'indice méso-procyclique n'a

été enregistrée entre les femelles ayant reçu un ou deux repas sains avant l'infection.

Sexes confondus, l'indice méso-procyclique des mouches ayant pris 0 repas a été plus élevé que celui des mouches ayant reçu un ($\chi^2 = 134,32$; $p < 0,001$) ou deux repas sains ($\chi^2 = 127,75$; $p < 0,001$). Aucune différence significative de cet indice n'a été observée entre les mouches ayant pris un et deux repas sains.

3.2.2. Indice métacyclique

Aucune différence significative d'indice métacyclique n'a été détectée entre les mâles et les femelles de chaque groupe. Les mâles ayant pris 0 repas ont été plus atteints que ceux ayant reçu un ($\chi^2 = 23,83$; $p < 0,001$) ou deux ($\chi^2 = 54,38$; $p < 0,001$) repas sains, tandis que les mâles ayant reçu un repas sain ont été plus infectés ($\chi^2 = 5,03$; $p < 0,05$) que ceux ayant reçu deux repas sains avant l'infection.

Les femelles ayant pris 0 repas ont été plus infectées que celles ayant reçu un ($\chi^2 = 52,07$; $p < 0,001$) ou deux ($\chi^2 = 75,24$; $p < 0,001$) repas sains. Aucune différence significative d'indice métacyclique n'a été observée entre les femelles ayant pris un ou deux repas sains avant l'infection.

Sexes confondus, les mouches ayant reçu 0 repas ont été plus infectées que celles ayant pris un ($\chi^2 = 69,10$; $p < 0,001$) ou deux repas sains ($\chi^2 = 126,33$; $p < 0,001$). Par ailleurs, les mouches ayant reçu un repas sain ont été plus atteintes ($\chi^2 = 6,14$; $p < 0,05$) que celles ayant reçu deux repas sains avant l'infection.

3.2.3. Compétence vectorielle (CV)

Aucune différence significative de CV n'a été trouvée entre les mâles et les femelles des mouches ayant reçu 0 repas avant l'infection. En revanche, la CV des mâles ayant reçu un ($\chi^2 = 7,09$; $p < 0,01$) ou deux repas sains ($\chi^2 = 6,13$; $p < 0,05$) a été plus

importante que celle de leurs congénères femelles.

La CV des mâles ayant reçu 0 repas a été plus importante que celle des mâles ayant reçu un ($\chi^2 = 70,49$; $p < 0,001$) ou deux ($\chi^2 = 91,95$; $p < 0,001$) repas sains. Aucune différence significative de CV n'a été enregistrée entre les mâles ayant reçu un ou deux repas sains avant l'infection.

Sexes confondus, la CV a été moins importante chez les mouches ayant pris deux repas sains, mais la différence avec la CV des mouches ayant pris un repas sain n'était pas significative. La CV des mouches ayant reçu 0 repas a été plus importante que celle des mouches ayant pris un ($\chi^2 = 181,71$; $p < 0,001$) ou deux repas sains ($\chi^2 = 231,76$; $p < 0,001$)

3.2.4. Infections des rats nourriciers

Le premier lot de rats nourriciers ($n = 4$), utilisés pour l'entretien des mouches ayant pris 0, un ou deux repas sains, est devenu positif à l'examen du *buffy coat*, respectivement à J₇, J₈ et J₉. Le deuxième lot ($n = 4$) a été infecté après 8 j. Les animaux succombent rapidement à l'infection, lorsque leur parasitémie atteint l'antilog 8,1-8,4.

4. DISCUSSION

Dans cette expérience, deux facteurs imbriqués semblent influencer les taux d'infection de mouches : le repas de sang et l'âge des mouches au moment du repas infectieux.

4.1. Repas de sang

Des taux élevés d'infection sont rencontrés chez les mouches ténéales ayant pris leur premier repas sur un hôte infecté : après ce repas, les glossines deviennent rapidement réfractaires aux repas infectieux subséquents [14]. De leur côté, Van Hoof et al. [21] ont montré que les mouches non téné-

rales de *G. palpalis* sp. restent réfractaires à *T. brucei gambiense*. La différence entre nos résultats et ceux de ces auteurs [21] est due probablement aux espèces de mouches et de trypanosomes étudiées, indiquant qu'il existe une grande variabilité de la sensibilité entre les espèces de glossines et les différents nosodèmes de trypanosomes, comme signalé déjà par Maudlin [16].

Pour que l'infection ait lieu, Wijers [22] affirme que le premier repas doit être infectieux et que les mouches doivent être infectées dès que possible après leur émergence. Dans notre travail, les CV de $0,21 \pm 0,06$ et $0,13 \pm 0,05$ enregistrées respectivement chez les mouches ayant reçu un ou deux repas sains appuient cette observation. Leur valeur est nettement inférieure à celle de $0,95 \pm 0,03$ observée chez les mouches ayant pris 0 repas avant l'infection (tableau I). Contrairement au travail de Duke [3] et en accord avec les données obtenues précédemment [13], la présente étude montre qu'un ou deux repas sains, antérieurs au repas infectieux, diminuent les taux d'infections méso-procyclique et métacyclique, ainsi que la CV des mouches par rapport à 0 repas. Toutefois, on ne note pas de différence de CV chez les mouches ayant pris un ou deux repas sains.

4.2. Âge et sexe

Distelmans et al. [2], Harley [9] et Wijers [22] ont montré que la résistance à l'infection par les espèces des sous-genres *Trypanozoon* et *Nannomonas* augmentait avec l'âge des glossines. Le présent travail révèle que les mouches non ténéales de *G. m. morsitans* (souche Mall), âgées de 56 et 80 h maximum restent sensibles à *T. congolense* IL 1180. On admet que la réceptivité des mouches est en relation avec la constitution anatomique de leur membrane péritrophique (MP).

Les taux d'infections intestinales enregistrés ici ne semblent pas conforter l'hypothèse de Willet [23] qui stipule que chez les

mouches ténérales, la MP est plus perméable au passage des trypanosomes, tandis que chez les mouches non ténérales, elle est chitineuse, ce qui entrave l'installation du parasite. Dans notre expérience, il est probable que la chitinisation de la MP se réalise très tardivement chez certains individus de *G. m. morsitans* (souche Mall), facilitant ainsi le passage des trypanosomes [5]. La présence d'érythrocytes dans l'espace ectopéritrophique, en l'absence de rupture de la MP [6], appuie cette hypothèse.

Gingrich et al. [8] affirme que les mouches de *G. m. morsitans*, nourries pendant quatre jours de suite avant le repas infectieux, développent des taux d'infection comparables à ceux des mouches ténérales. Cependant, nos observations montrent que ces taux sont nettement inférieurs à ceux obtenus chez les mouches ténérales (< 32 h), indiquant que les repas sains antérieurs à un repas infectieux limite, mais n'entrave pas la métacyclonèse.

Par ailleurs, l'influence du sexe sur la CV est un sujet controversé. Pour cause, Baker et Robertson [1] n'ont pas trouvé de différence significative de CV entre les mâles et les femelles de *G. m. morsitans* maintenus dans des conditions identiques de laboratoire. En revanche, nos résultats révèlent que la CV des mâles est plus élevée que celle des femelles. Cette étude montre que les indices méso-procyclic et méta-cyclic et la CV des mouches ayant pris 0 repas ont été plus importants que ceux des individus ayant reçu un ou deux repas sains antérieurs au repas infectieux. Elle révèle également que la réceptivité de *G. m. morsitans* au sous-genre *Nannomonas* est un phénomène qui n'est pas limité aux mouches ténérales. La prise d'un ou de deux repas de sang sains, antérieurs au repas infectieux diminue, mais n'inhibe pas la compétence vectorielle de *G. m. morsitans* vis-à-vis de *T. congolense* IL 1180. Si ces résultats sont confirmés sur le terrain, ils permettraient de modifier notre perception de l'épidémiologie de la nagana, dont le principal agent étiologique reste *T. congolense* [18].

REMERCIEMENTS

Ce travail fait partie d'un programme de recherche financé par l'AGCD (Administration générale de la coopération au développement, gouvernement belge). Les auteurs remercient le Professeur S. Geerts de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers qui a bien voulu lire et corriger ce manuscrit. Ils remercient également les deux lecteurs anonymes de la revue *Veterinary research* pour leurs suggestions et remarques qui ont permis de faciliter la compréhension de cet article. L'assistance technique des messieurs A. Nde Bens et M. Liman est appréciée.

RÉFÉRENCES

- [1] Baker J.R., Robertson D.H.H., An experiment on the infectivity to *Glossina morsitans* of a strain of *Trypanosoma rhodesiense* and of a strain of *T. brucei* with some observations on the longevity of infected flies, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 51 (1957) 121-135.
- [2] Distelmans W., D'Haeseleer F., Kaufman L., Rousseuw P., The susceptibility of *Glossina palpalis palpalis* at different ages to infection with *Trypanosoma congolense*, *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* 62 (1982) 41-47.
- [3] Duke H., On the factors that may determine the infectivity of a trypanosome to tsetse, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 29 (1935) 203-206.
- [4] Elsen P., Van Hees J., De Lil E., 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 (1993) 439-449.
- [5] Fairbairn H., The penetration of *Trypanosoma rhodesiense* through the peritrophic membrane of *Glossina palpalis*, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 52 (1958) 18-19.
- [6] Freeman J.C., The penetration of the peritrophic membrane of tsetse flies by trypanosomes, *Acta Trop.* 30 (1973) 247-354.
- [7] Geigy R., Kauffman M., Sleeping sickness survey in the Serengeti area (Tanzania) 1971: examination of large mammals for trypanosomes, *Acta Trop.* 30 (1973) 12-23.
- [8] Gingrich J.B., Ward R.A., Macken L.M., Esser K.M. African sleeping sickness: new evidence that mature tsetse flies (*Glossina morsitans*) can become potent vectors, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76 (1982) 479-481.
- [9] Harley J., The influence of the age of the fly at the time of the infecting feed on infection of *Glos-*

- sina fuscipes* with *Trypanosoma rhodesiense*, Ann. Trop. Med. Parasitol. 65 (1971) 191–196.
- [10] Herbert W.J., Lumsden W.H.R. *Trypanosoma brucei*: a ‘matching’ method for estimating the host’s parasitaemia. Exp. Parasitol. 40 (1976) 427–431.
- [11] Kazadi J.M.L., Elsen P., Jochems M., Van Hees J., Van den Abeele, Kageruka P., 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 (1994) 89–92.
- [12] Kazadi J.M., Kageruka P., Martin O., Losson B., Van Hees J., Infection expérimentale de *Glossina morsitans morsitans* (Mall) par *Trypanosoma congolense* (ZRE/G143/90). Cycle du parasite et compétence vectorielle de la glossine, Vet. Res. 27 (1996) 579–587.
- [13] Kazadi J.M., Kageruka P., Losson B., Torreele G., De Deken R., Gnanvi C., Compétence vectorielle des mouches de *Glossina palpalis palpalis*, *Glossina p. gambiense* et *Glossina morsitans morsitans* (Mall) vis-à-vis d’un clone de *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* IL 1180, Parasite 5 (1998) 159–165.
- [14] Lambrecht F.L., Ecological and physiological factors in the cyclic transmission of African trypanosomiasis, Insect Sc. Appl. 1 (1980) 47–54.
- [15] Le Ray D., Vector susceptibility to African trypanosomes, Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 69 (suppl. 1) (1989) 165–171.
- [16] Maudlin I., Transmission of African trypanosomiasis: interactions among tsetse immune system, symbionts and parasites, in : Kerry F.H. (éd.), Advances in Disease Vector Research, Springer Verlag, New York, 1991, pp. 117–148.
- [17] Moloo S.K., Effects of maintaining *Glossina morsitans morsitans* on different hosts upon the vector’s subsequent infection rates with pathogenic trypanosomes, Acta Trop. 38 (1981) 125–136.
- [18] Moloo S.K., Kutuza S.B., Comparative study on the infection rates of different laboratory strains of *Glossina* species by *Trypanosoma congolense*, Med. Vet. Entomol. 2 (1988) 253–257.
- [19] Murray M., Murray P.K., McIntyre I.M., An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis, Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 71 (1977) 325–326.
- [20] Mwangela M.I., Otieno L.H., Reid G.D.F., Some barriers to *Trypanosoma congolense* development in *Glossina morsitans morsitans*, Insect Sci. Appl. 8 (1987) 33–37.
- [21] Van Hoof L., Henrard C., Peel E., Influences modificatrices de transmissibilité cyclique du *Trypanosoma gambiense* par *Glossina palpalis*, Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 17 (1937) 63–76.
- [22] Wijers D.J.B., 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 (1958) 385–390.
- [23] Willet K.C., Development of the peritrophic membrane in *Glossina* (tsetse flies) and its relation to infection with trypanosomes, Exp. Parasitol. 13 (1966) 290–295.