

J.M.L. Kazadi ¹J. Van Hees ¹M. Jochems ¹P. Kageruka ¹

Étude de la capacité vectorielle de *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso) vis-à-vis de *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125

KAZADI (J.M.L.), VAN HEES (J.), JOCHEMS (M.), KAGERUKA (P.). Étude de la capacité vectorielle de *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso) vis-à-vis de *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1991, 44 (4) : 437-442

Sur 440 mouches ténérales de *Glossina palpalis gambiensis* nourries une fois sur cobaye infecté chroniquement avec *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125, le taux d'infection procyclique s'élève à 2,32 p. 100, tandis que celui de l'infection métacyclique est de 11,29 p. 100, dont 13,19 p. 100 chez les mâles et 9,55 p. 100 chez les femelles. Aucune différence significative sur la capacité vectorielle n'est observée entre les mâles et les femelles. Le degré de la parasitémie et le pourcentage des formes courtes au moment du repas infectant, combinés aux conditions de maintenance, semblent influencer l'infection chez les mouches. *Mots clés* : *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso) - *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125 - Vecteur - Cobaye.

INTRODUCTION

La transmission cyclique des trypanosomes africains de la section Salivaria dépend de multiples facteurs biologiques, physiologiques, physiques et génétiques inhérents au vecteur, au parasite, à l'hôte et à l'environnement. Ces facteurs régissent le processus de métacyclogenèse et déterminent la capacité vectorielle des glossines (4, 12, 13).

Si le taux d'infection naturelle des glandes salivaires de glossines par les trypanosomes du complexe *brucei* demeure très bas (10), les causes qui favorisent la transmissibilité du parasite ne cessent de susciter l'intérêt des chercheurs.

L'objectif de ce travail est de mettre en exergue des facteurs parasitologiques et entomologiques capables d'influencer la capacité vectorielle de *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso) vis-à-vis de *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125 (East African Trypanosomiasis Research Organisation) en utilisant le cobaye comme hôte nourricier et hôte d'entretien.

1. Institut de médecine tropicale Prince Léopold, Département de Santé animale, Nationalestraat 155, B-2000 Antwerpen 1, Belgique.

Reçu le 17.10.1991, accepté le 11.11.1991.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Glossine

La souche de *G. p. gambiensis* utilisée est originaire de Bobo Dioulasso, Burkina Faso. Une lignée de cette souche est colonisée dans les modules d'élevage des tsé-tsé de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers (IMTA) depuis mai 1986, à partir de pupes fournies par l'International Laboratory for Research on Animal Diseases (ILRAD), Nairobi, Kenya.

Trypanosome

Trypanosoma brucei brucei MAVUBWE/66/EATRO/1125 a été isolé d'un céphalophe, *Tragelaphus scriptus*, en Ouganda. Il a déjà fait l'objet de caractérisation par les méthodes suivantes : le test d'inféctivité après incubation en présence de sérum humain, l'épreuve d'inféctivité à un volontaire humain, l'hybridation de l'ADN, l'électrophorèse isoenzymatique et la sérologie (WILSON *In* 15) (3, 21, 23). Il exprime le répertoire d'antigènes variables ANTA 1 (Antwerp Trypanozoon Antigen Repertoire) (17).

La population utilisée, ITMAP 111280, provient d'une transmission cyclique par *G. tachinoides* (N'Dajmena) après cryopréservation d'un stabilat de sang de cobaye infecté dans l'azote liquide (- 196 °C), en présence de diméthylsulfoxyde (DMSO) (15).

Cobayes

Deux cobayes adultes sains ont été infectés mécaniquement par voie intrapéritonéale avec une dose de 0,5 ml de sang titrant l'antilog 7,8 pour *T. b. brucei* EATRO 1125 selon la « matching method » de HERBERT et LUMSDEN (11). La même méthode a été utilisée pour évaluer la parasitémie jusqu'au jour 45, moment de l'infection des glossines.

Repas infectant

Des mouches ténérales mâles (n = 252) et femelles (n = 188), âgés de moins de 32 h, ont été engagées et nourries une fois pendant 10 min sur les flancs d'un des deux

cobayes infectés, lorsque la parasitémie oscillait entre antilog 7,8 et 8,1 avec une formule morphologique de 3-4 p. 100 de formes trapues, 26-42 p. 100 de formes longues et 52-71 p. 100 de formes intermédiaires.

Les mouches gorgées ont été séparées des mouches non repues sous anesthésie de 3 min en atmosphère d'azote. Les mouches non gorgées ont été écartées de l'expérience.

Maintenance

Les mouches repues ont été réencagées et maintenues pendant 43 jours dans un local aménagé pour la transmission cyclique ($25 \pm 0,5$ °C et 80 ± 5 p. 100 HR) avec alternance lumière artificielle-obscurité de 12 h. Elles ont été nourries quotidiennement (5 jours sur 7) pendant 15 min sur deux groupes des cobayes nourriciers sains, à partir du jour 1 post-infection.

Les cobayes recevaient de la nourriture (Huybrechts) et de l'eau *ad libitum*. L'examen du « buffy coat » a été fait régulièrement pour détecter précocement la parasitémie subpatente des cobayes nourriciers. Les sujets infectés ont été remplacés par des individus indemnes.

Dissection

La dissection des glossines a eu lieu entre les jours 38 et 43 post-infection, précédée d'un jeûne de 48 h. Les mouches mortes au cours de l'expérience ont été également disséquées.

La dissection a été réalisée selon la technique décrite par POLLOCK (22) et a porté sur l'intestin moyen et les glandes salivaires. La mise en évidence des trypanosomes a été faite grâce au microscope Olympus pourvu d'un contraste de phase (agrandissement x 400).

Le taux de mortalité précoce (J0-J10) a été évalué par le pourcentage de mortalité quotidienne :

$$\frac{n. \text{ mortes}}{n. \text{ mouches} \times n \text{ jours}} \times 100$$

Analyse statistique

Le test du χ^2 a été appliqué pour comparer les paramètres relatifs au gorgement des mouches ténérales, à la mortalité précoce durant la période d'expérience et au développement de l'infection entre les mouches mâles et femelles.

Capacité vectorielle intrinsèque (CVI)

La capacité vectorielle intrinsèque a été calculée suivant la formule proposée par LE RAY (16) :

$$CVI = p \times m$$

où p est la proportion [n' mouches procycliques/mouches gorgées] des glossines permettant aux trypanosomes dans le sang circulant de s'établir comme procycliques dans l'intestin moyen, et où m est la proportion [n" mouches métacycliques/n' mouches procycliques] des mouches procycliques infectées permettant aux trypanosomes de migrer vers les glandes salivaires.

RÉSULTATS

Le tableau I montre le taux de gorgement, les pourcentages de mortalité et de survie des glossines.

L'analyse statistique des données du tableau I montre qu'il existe deux niveaux de différences :

- à l'intérieur de la population gorgée, entre les mâles et les femelles (Gadj = 10,581 ; p < 0,001) ;

- à l'intérieur de la population morte précocement, entre les mâles et les femelles (Gadj = 21,702 ; p < 0,001).

Les résultats de la capacité vectorielle intrinsèque sont consignés dans le tableau II, tandis que la figure 1 traduit le taux d'infektivité des mouches.

TABLEAU I Paramètres entomologiques observés chez *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso).

| Ténérales | Non gorgées | | Gorgées | | Mortalité précoce | | Survie jusqu'au J 43 | |
|-----------|-------------|-----------|---------|-----------|-------------------|-----------|----------------------|-----------|
| | n | (p. cent) | n | (p. cent) | n | (p. cent) | n | (p. cent) |
| ♂ 252 | 51 | (20,23) | 201 | (79,76) | 57 | (2,83) | 144 | (71,64) |
| ♀ 188 | 16 | (8,51) | 172 | (91,48) | 15 | (0,87) | 157 | (91,27) |
| Total 440 | 67 | (15,23) | 373 | (84,77) | 72 | (1,93) | 301 | (80,70) |

TABLEAU II Capacité vectorielle intrinsèque de *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso) pour *Trypanosoma brucei* brucei EATRO 1125.

| Sexe | Glossines | | Indice d'infection | | | CVI = pxm | |
|-------|-----------|------------|----------------------|------------------------|--------|-----------|-------|
| | Gorgées | Disséquées | $p (= \frac{n'}{n})$ | $m (= \frac{n''}{n'})$ | n'' | | |
| ♂ | 201 | 144 | (0,17) | 25 | (0,76) | 19 | 0,129 |
| ♀ | 172 | 157 | (0,10) | 16 | (0,93) | 15 | 0,093 |
| Total | 373 | 301 | (0,14) | 41 | (0,83) | 34 | 0,116 |

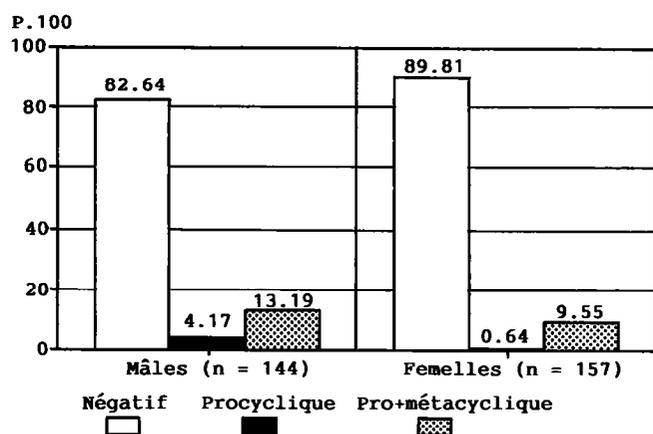


Fig. 1 : Taux d'infection de *Glossina palpalis gambiensis* (Bobo Dioulasso) par *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125.

L'analyse statistique des données du tableau II ne montre pas de différence significative entre les mâles et les femelles en ce qui concerne l'infection des glandes salivaires (Gadj = 1,098 ; $p < 0,295$).

La figure 1 montre pour les mouches procycliques n'ayant pas atteint le stade métacyclique, une différence significative entre les mâles et les femelles (Gadj = 2,724 ; $p < 0,099$).

Sur 41 mouches porteuses des infections procycliques, 82,92 p. 100 ($n = 34$) ont atteint le stade métacyclique. Les sites des localisations de métatrypanosomes, leur morphologie et leur concentration varient au sein d'une même mouche. Cette variation affecte indépendamment les deux glandes salivaires.

La dissection des 72 mouches mortes avant le terme de l'expérience a donné des résultats négatifs. Les deux groupes des cobayes nourriciers utilisés pour le maintien des glossines sont devenus tous positifs : le premier après 33 jours, et le second 5 jours après la substitution du premier groupe.

DISCUSSION

Les résultats obtenus au cours de cette expérience révèlent une complexité entre *G. p. gambiensis* (Bobo Dioulasso) et *T. b. brucei* EATRO 1125. L'indice de la capacité vectorielle intrinsèque est loin d'être négligeable ; il atteint 0,129 chez les mâles et 0,093 chez les femelles. Nonobstant son long séjour truffé de nombreuses manipulations au laboratoire, cette mouche conserve son pouvoir infectant.

Le protocole expérimental étant la présentation d'un seul repas infectant, on constate, à cette occasion, que la proportion des mouches gorgées ($n = 373$) est beaucoup plus élevée que celle des mouches non gorgées ($n = 67$). Ce succès serait imputable à l'opportunité connue du groupe *palpalis* auquel appartient la population des glossines utilisées.

L'ingestion du premier repas infectant est un moment critique pour les mouches ténérales, car elle permet l'établissement et la transformation des trypanosomes dans le sang en formes procycliques, condition *sine qua non* pour régir le processus de la métacylogenèse (10, 27).

La fréquence des repas chez la glossine dépend du degré de réplétion et de la digestion du sang ingéré les jours précédents (22). Les observations faites au cours de cette expérience montrent que, malgré la disponibilité du repas d'entretien, les mouches ne se nourrissent ni tous les jours, ni de la même façon, et cette différence paraît plus nette entre les deux sexes : les mâles se nourrissent de manière plus irrégulière que les femelles.

On peut se demander si la régularité des repas d'entretien peut influencer la capacité vectorielle des glossines. Les résultats obtenus au cours de cette expérience ne montrent pas de différence significative entre les mâles et les femelles infectés au niveau des glandes salivaires, bien que les femelles se soient gorgées plus régulièrement que les mâles. Plusieurs auteurs, dont MAUDLIN (18), affirment que pour le groupe *brucei*, les glossines mâles montrent un taux d'infections métacycliques plus élevé que celui de femelles.

En procédant à un protocole de l'optimisation expérimentale de la capacité vectorielle utilisant une fois la souris comme hôte infectant et le lapin comme hôte d'entretien selon le régime 2.2.3., MAKUMYAVIRI (17) a signalé que *G. p. gambiensis* (Bobo Dioulasso) n'était pas un bon vecteur pour *T. b. brucei* (KIM1). Cette investigation montre qu'en utilisant le cobaye comme hôte infectant (un seul repas) et comme hôte d'entretien (5 jours sur 7), l'infection métacyclique induite par *T. b. brucei* EATRO 1125 atteint 13,19 p. 100 chez les mâles ($n = 144$) et 9,55 p. 100 chez les femelles ($n = 157$).

La divergence de nos résultats avec cet auteur pourrait être due à l'origine géographique différente des populations de *T. b. brucei* utilisées ou aux espèces d'hôtes fournissant le repas du sang comme le suggèrent GEIGY *et al.* (6).

Il apparaît toutefois qu'en utilisant une autre association parasite-vecteur, on peut moduler la capacité vectorielle. Aussi, MAKUMYAVIRI (17) et LE RAY (16) ont trouvé des résultats intéressants en associant *T. b. brucei* EATRO 1125 et *G. morsitans morsitans*.

Durant la période d'expérience, le taux de mortalité précoce calculé est relativement faible. Cela traduit les conditions de maintenance favorables, mais on note une différence très significative entre les mâles et les

femelles. Cette constatation confirme les observations antérieures sur la longévité des glossines mâles et femelles (19).

Plusieurs chercheurs ont mis en évidence le rôle des formes courtes dans l'infectivité des glossines. VICKERMAN (26), LANGLEY (14) et MOLYNEUX (20) affirment que ces formes sont préadaptées à la survie chez la mouche. GIFFIN et McCANN (7) réfutent cette thèse et indiquent que seules les formes intermédiaires évoluent chez l'hôte invertébré, puisque les formes courtes disparaissent à la fin de leur cycle de vie chez l'hôte mammifère. Les résultats de cette expérience ne permettent pas d'appuyer l'une ou l'autre thèse, les formes courtes et intermédiaires étant toutes les deux présentes au moment du repas infectant, quoique dans des proportions nettement différentes. Il est cependant intéressant de tenir compte de cette controverse jusqu'à ce que des preuves décisives aient défini sa valeur.

Ce travail montre que la corrélation existant entre le degré de la parasitémie (antilog 7,8 - 8,1) et la proportion des formes courtes (3 - 4 p. 100) au moment du repas infectant semble influencer la capacité vectorielle. Cette capacité ne peut évoluer dans le temps et l'espace sans l'intégration combinée des facteurs intrinsèques et extrinsèques précités.

On peut par ailleurs s'interroger sur le taux relativement satisfaisant de métacycliques trouvés chez les mouches, malgré la stratégie utilisée pour influencer la capacité vectorielle. Les résultats de l'expérience sont en accord avec ceux de HARLEY (9) qui souligne que des infections par le complexe de *T. brucei* sont extrêmement rares au stade métacyclique. HARMSEN (10) affirme que la fréquence pour que les glossines soient infectées après la prise d'un repas infectant sur un vertébré, dans des conditions de laboratoire, excède rarement 4 p. 100. Les fréquences plus basses ont été signalées : 0,25 p. 100 (8) ; 0,3 - 0,5 p. 100 (1, 24, 25).

Les facteurs qui président à l'échec de l'établissement d'infections par *T. brucei* sbsp. sont peu élucidés (28). Il est établi que la différence de température observée entre les hôtes mammifères (37 °C) et invertébrés (20-

25 °C) provoque souvent une réponse de choc thermique lors du transfert de trypanosomes et partant, une cessation de synthèse de plusieurs protéines (5, 10). Les facteurs génétiques peuvent être invoqués ainsi que le rôle de la membrane péritrophique.

Les résultats de la dissection permettent de postuler que de procycliques qui grouillent dans l'espace ectopéritrophique des mouches au-delà du 25e jour post-infection, ont plus de chances de produire de métatrypomastigotes. Contrairement à ce qu'affirme DUKE (2), on n'a pas trouvé d'infections glandulaires sans infections procycliques.

CONCLUSION

Les bons résultats obtenus avec le couple *G.p. gambiense* (Bobo Dioulasso) et *T.b. brucei* EATRO 1125 semblent être le concours des facteurs suivants :

- l'âge des mouches ténérales (< 32 h) en relation avec le degré de parasitémie et le taux des formes trapues au moment de l'infection ;
- le maintien de la même espèce d'hôte (cobaye) fournissant le repas infectant et le repas d'entretien ;
- la durée de survie de la mouche (\pm 40 jours) au cours de laquelle la métacyclogenèse paraît s'accomplir pleinement ;
- les conditions microclimatiques pour la maintenance.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Administration générale à la Coopération et au Développement (gouvernement belge) de l'appui financier alloué à l'un d'eux pour la recherche, et M. L. DUCHATEAU pour l'analyse statistique des données ainsi que Mme C. MATTELAERE pour le soin apporté à la mise en page de ce travail.

KAZADI (J.M.L.), VAN HEES (J.), JOCHEMS (M.), KAGERUKA (P.). Evaluation of the vectorial capacity of *Glossina palpalis gambiense* (Bobo Dioulasso) for *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1991, 44 (4) : 437-442.

A total of 440 teneral *Glossina palpalis gambiense* received one single bloodmeal on a guinea pig infected chronically with *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125. Metacyclic infections were present in 11.29 % of the flies, in 2.32 % infections were limited to procyclic stages. No significant difference in vectorial capacity was observed between male and female flies, the level of metacyclic infections being 13.19 % in the former and 9.55 % in the latter. The parasitaemia level, the percentage of stumpy forms at the moment of the blood meal and the maintenance conditions of the flies seemed to influence the infection of the flies. *Key words* : *Glossina palpalis gambiense* (Bobo Dioulasso) - *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125 - Vector - Guinea-pig.

KAZADI (J.M.L.), VAN HEES (J.), JOCHEMS (M.), KAGERUKA (P.). Estudio sobre la capacidad vectorial de *Glossina palpalis gambiense* (Bobo Dioulasso) para con *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1991, 44 (4) : 437-442.

Se alimentaron 440 moscas tenebres de *Glossina palpalis gambiense* sobre un cobayo infectado en forma crónica con *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125. La tasa de infección procíclica llegó a 2,32 p. 100, mientras que la de infección metacíclica fue de 11,29 p. 100 (13,19 p. 100 en machos y 9,55 p. 100 en hembras). No se observó ninguna diferencia significativa de la capacidad vectorial entre machos y hembras. Tanto el nivel de la parasitemia, como el porcentaje de formas cortas existentes en el momento de la alimentación infectante y las condiciones de mantenimiento, parecen favorecer la infección en las moscas. *Palabras claves* : *Glossina palpalis gambiense* (Bobo Dioulasso) - *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125 - Vector Cobayo.

BIBLIOGRAPHIE

1. BURTT (E.). Incubation of tsetse pupae : Increased transmission rate of *Trypanosoma rhodesiense* in *Glossina morsitans*. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 1946, **40** : 18-28.
2. DUKE (H.L.). Studies on the factors that may influence the transmission of the polymorphic trypanosomes by tsetse. IV. On the spontaneous disappearance of flagellates from an infected *Glossina*. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 1933, **27** : 431-435.
3. ELDIRDIRI (A.B.). Studies on *Trypanosoma brucei gambiense* : Parasitology, Antigenic variation and serodemology. Thèse Doct., Université Catholique de Louvain, 1981.
4. EVANS (D.A.), ELLIS (D.S.). Recent observations on the behaviour of certain trypanosomes within their insect hosts. *Adv. Parasitol.*, 1983, **22** : 1-42.
5. FRIEDHOFF (K.T.). Interaction between parasite and vector. In : Proceedings of the 6th Int. Congress of Parasitology quo vadit, Camberra, M.J. Howell, 1986.
6. GEIGY (R.), KAUFFMANN (M.), STEIGER (R.), BRUN (R.). Influence of bloodmeals from different donors on the infection rates of *Trypanosoma brucei* in *Glossina*. *Acta Trop.*, 1971, **32** : 164-169.
7. GIFFIN (B.F.), McCANN (P.P.). Physiological activation of the mitochondrion and the transformation capacity of DFMO-induced intermediate and short stumpy bloodstream for trypanosomes. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 1989, **40** : 487-493.
8. GORDON (R.M.), MILLER (J.K.). Cyclical infection of *Glossina morsitans* with culture forms of *Trypanosoma rhodesiense*. *Nature*, 1961, **191** : 1317.
9. HARLEY (J.M.B.). Studies on age and trypanosome infection rate in females of *Glossina pallidipes* aust., *G. palpalis fuscipes* newst., and *G. brevipalpis* newst. in Uganda. *Bull. Ent. Res.*, 1966, **57** : 23-37.
10. HARMSSEN (R.). The nature of the establishment barrier for *Trypanosoma brucei* in the gut of *Glossina pallidipes*. *Trans. R. Soc. Trop. Hyg.*, 1973, **67** : 364-373.
11. HERBERT (W.J.), LUMSDEN (W.H.R.). *Trypanosoma brucei* : A rapid « matching » method for estimating the host's parasitaemia. *Exp. Parasitol.*, 1976, **40** : 427-431.
12. JORDAN (A.M.). Observations on the ecology of *Glossina morsitans submorsitans* Newst. in the northern Guinea savannah of northern Nigeria. *Bull. Ent. Res.*, 1965b, **56** : 1-16.
13. LAMBRECHT (F.L.). Ecological and physiological factors in the cycle transmission of African trypanosomiasis. *Insect. Sci. Applic.*, 1980, **1** : 47-54.
14. LANGLEY (P.A.). Pathogen transmission in relation to feeding and digestion by haemotophagus arthropods. *Acta Trop.* 1975, **32** : 116-122.
15. LE RAY (D.). Structures antigéniques de *Trypanosoma brucei* (Protozoa, Kinetoplastida). Analyse immunoelectrophorétique et étude comparative. *Annls Soc. belge Méd. trop.*, 1975, **55** : 129-311.
16. LE RAY (D.). Vector susceptibility to African trypanosomes. *Annls Soc. belge Méd. trop.*, 1989, **69** (suppl.1) : 165-171.
17. MAKUMYAVIRI (M.A.). 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, 1987.
18. MAUDLIN (I.). Transmission of African trypanosomiasis : Interactions among tsetse immune system, symbionts and parasites. In : KERRY (F.) ed. Advances in disease vector research. New York, Harris Springer-Verlag, 1991.
19. MEWS (A.R.), LANGLEY (P.A.), PIMLEY (R.W.), FLOOD (M.E.T.). Large scale rearing of tsetse flies (*Glossina* spp.) in the absence of a living host. *Bull. Ent. Res.*, 1977, **67** : 119-128.
20. MOLYNEUX (D.H.). Host trypanosome interactions in *Glossina*. *Insect. Sci. Applic.*, 1980, **1** : 39-46.
21. PAINDAVOINE (P.), PAYS (E.), LAURENT (M.), GELTMEYER (Y.), LE RAY (D.), MEHLITZ (D.), STEINERT (M.). The use of DNA hybridization and numerical taxonomy in determining relationship between *Trypanosoma brucei* stocks and sub-species. *Parasitol.*, 1986, **92** : 31-50.
22. POLLOCK (J.N.). Manuel de lutte contre la mouche tsé-tsé. Rome, FAO, 1982.
23. TAIT (A.), ELDIRDIRI (A.B.), LE RAY (D.). Enzyme variation in *Trypanosoma brucei* spp. I. : Evidence for the subspeciation of *Trypanosoma brucei gambiense*. *Parasitol.* 1984, **89** : 311-326.

24. TAYLOR (A.W.). The development of West african strains of *Trypanosoma gambiense* in *Glossina tachinoides* under normal laboratory conditions and at raised temperatures. *Parasitol.*, 1932, **24** : 401-418.
25. VAN HOOF (L.), HENRAD (C.), PEEL (E.). Influences modificatrices de la transmissibilité cyclique de *Trypanosoma gambiense* par *Glossina palpalis*. *Anns Soc. belge Méd. trop.*, 1937, **17** : 1-24.
26. VICKERMAN (K.). Morphological and physiological considerations of extracellular blood protozoa. In : FALLIS (A.M.) ed. Ecology and physiology of parasite. Toronto, University Press, 1971.
27. VICKERMAN (K.), TETLEY (L.), HENDRY (K.A.K.), TURNER (C.M.R.). Biology of African trypanosomes in the tsetse fly. In : Biology of the cell. Paris, Elsevier, 1988.
28. WARD (R.A.). The susceptibility of *Glossina austeni* to infection with *Trypanosoma brucei*. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1968, **62** : 672-678.