

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE INTER - ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES (E.I.S.M.V.) DE DAKAR

ANNEE 2008



N° 59

ETUDE DE L'ISOLEMENT DES POPULATIONS DE GLOSSINES DU FLEUVE MOUHOUN PAR RAPPORT AUX BASSINS ADJACENTS AU BURKINA FASO.

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 22 décembre 2008 à 9 heures
Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar pour
obtenir le grade de **DOCTEUR VETERINAIRE (Diplôme D'Etat)** par :

Kouadjo Théodore DOMAGNI

Né le 08 Mai 1984 à Yobouakro (Côte d'Ivoire)

Jury

Président :

M. Issa LO

Professeur à la Faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar

**Directeur et Rapporteur :
de Thèse**

M. Ayao MISSOHOU

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Membre :

M. Serge N. BAKOU

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Co-directeur

M. Jeremy BOUYER

Chercheur au CIRDES

DEDICACE

DEDICACE

Au Seigneur Jésus Christ

Tout est possible à celui qui croit. J'ai cru et tu fais de moi ce que je suis aujourd'hui. Que toute la gloire te revienne.

A mon père DOMAGNI Cyprien

Tu voulais un docteur vétérinaire, eh bien tu l'as ! Tu ne t'es pas limité à une simple volonté, mais tu y as mis les moyens, en m'inscrivant à titre privé à l'EISMV. Tu as été un Puissant 'moteur' pour mes études universitaires. Merci pour ton éducation rigoureuse. Que Dieu t'accorde longue vie afin de profiter des fruits de ce travail.

A ma chère mère DAGNIVI Adjoua

Merci pour la chaleur maternelle dont tu m'as couvert. Tu as conduit mes premiers pas, sacrifié ton bonheur à mon profit, comment te dire merci. Que Dieu te bénisse Maman.

A mes mamans YAHOUEDO Suzanne et NAHINDE Bibiane

Merci pour vos prières et soutiens inlassables. Que Dieu se souvienne constamment de vous.

A mon grand frère DOMAGNI Edouard (DOE)

Je me souviens encore de cette phrase 'Tu m'attendais, eh bien je suis là, tu feras la médecine vétérinaire'. Tu m'as encouragé, et tu t'es investi pour les formalités. Ce travail est le tien, rendez-vous dans le futur où le meilleur nous attend.

A mon grand frère DOMAGNI Bernard ('Bigui')

Tu as été une référence pour moi tant scolaire que spirituelle. Que Dieu bénisse ta famille

A mes adorables frères et sœurs

Athanase (Doyen), Justin ('maître dague', 'maître jongleur', 'l'envoyé'), Juliette ('la vieille mère'), Bienvenu 1, Bienvenu 2 ('dhou pierre') Mérine ('chef

commit'), Alain ('King'), Jean ('John') mon petit François ('Tik'), Ivette ('Gomboiste') et mon petit Pacôme ('doud'), je vous aime

A mes grandes sœurs: Martine, Kinmi, que Dieu vous bénisse pour votre soutien.

A la famille KOUAME

Merci pour vos soutiens de tout genre. Que Dieu vous le rende selon sa richesse.

Au Docteur Aly DIADHIOU

Je ne sais comment te dire merci. Tu nous as non seulement informé de l'existence de l'EISMV et en plus tu m'as accueilli chez toi.

A mon promotionnaire, ami et frère Gérard Guéboul Diop

Homme intègre et droit, tu es plus qu'un ami pour moi. Pour toujours, ta famille restera la mienne et la mienne la tienne.

A la famille DIOP

Papa Vincent et Maman Hélène vous m'avez toujours traité comme votre fils.

Un clin d'œil à mon 'vié père' Jo et à mes petites sœurs Joséphine ('collègue'), Marie Thérèse (ma 'Gamine', ma confidente, avec toi l'intégration n'est qu'une question de minutes), Marthe sans oublié Elisabeth, Rosalie et Mame. Que Dieu vous bénisse selon sa richesse riche.

A mon frère Elie BADAI ('tonton')

Tu as été un grand frère, un conseiller et un grand soutien pour moi. Sincère merci.

A mes amis et amies : Dovonou, Dossou, Akiyo, Hounyo, Gbénou, Clarisse, Alice, Pélagie, Séraphin, Boscos, N'dao, M'Betigaza Anicet, Lucain, Abdelaziz ('homologue'), Béténé, Mougang, Mme Dieng, Rakansou, Yang

A mes aînés : Dr Vitoulet, Dr Dayo et Dr Poutya pour leurs conseils.

A mes jeunes frères du véto : De Capistant, Victor, Fidèle.

A toute la 35eme Promotion : vous me manquez déjà

A mon ami de 'combat' : Fafa Sow, je ne t'oublierai jamais.

A mes durs de Bethel: Soffo ('Soffoïne'), Boka, Hermane, Noël, Asseu.

A mes durs d'Abidjan: Dapa kouamé, Jean Marc ('Esprit'), Abraham, Jacob, Nadia, Chimelle, Nadège dit 'Palin' Ancien Lucky, Hyppolyte sans oublié mon ami Augustin.

A mon amie et 'fille de clinique' : Rosalie SECK, merci pour ta collaboration

A mes filleuls du veto : Diouf, Bénédicte et Bamba, bonne continuation

A la famille Sanogo: Tonton Sanogo, ma grande sœur Nata (pour sa grande gentillesse) sans oublier mes deux petits (Razac et Aziz) et ma petite chérie Rafi

A mes amis de Bobo: Ousmane Maïga, Traoré, Akoudjim, Aristide, Mandé, Jacques, Hamidou, Zoumana, Pascal Tago, Anicet, Charles.

A toute l'église des AD de Bethel Dakar avec à sa tête le pasteur Mignane te le Pasteur Félix.

A toute l'église des AD de Koko Bobo Dioulasso avec à sa tête le pasteur Porgo Jacques et le pasteur Ouédraogo Jean.

A mes aînés Hien Ollo dit 'logik' et Aly KAMANGATE

A toute la communauté Béninoise au veto.

A toute la communauté Ivoirienne.

A toute la communauté Ivoirienne de Bethel.

A la famille AIWA : pour leur gentillesse remarquable.

Au GBU veto : que Dieu vous donne de préserver cette importante cellule.

A la 35ème promotion de l'EISMV : vous me manquez déjà.

A ma chère Emilie : ton amitié sincère me fait plonger dans le futur.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements :

-Au professeur **Louis Joseph PANGUI**, Directeur de l'EISMV de Dakar

Au professeur **Abdoulaye GOURO**, Directeur du CIRDES

-Au professeur **Ayao MISSOHOU**, merci de m'avoir encouragé à aller au CIRDES

-AU docteur **Jérémy BOUYER** pour avoir initié et encadré avec rigueur ce travail

-Au professeur **Serge BAKOU** pour son soutien et ses précieux conseils

-A notre professeur accompagnateur **Yamba KABORET**, merci pour tout

Au parrain de la 35^{ème} promotion : Mr Pierre Hazette.

-Au docteur **KAMAGA Alain**, vous étiez à l'aéroport pour m'accueillir quand je foulais pour la première fois les pieds à Dakar, sincères reconnaissances

-Au docteur **BENGALY Zakaria** pour sa simplicité et sa bonne humeur

-Au docteur **ADAKAL** mon encadreur lors de mon passage dans le service tique

-Au docteur **Mathurin KOFFI**, vous m'aviez non seulement initié avec rigueur à la biologie moléculaire. Votre aide a été précieuse et surtout capitale dans l'obtention de mes résultats. Dieu vous bénisse

-A la thésarde **Naférima KONE**, merci pour tes conseils, ton aide et surtout pour la bonne ambiance lors des manipulations

-Mr **Byla CENE**, ton sens d'ouverture, ta simplicité et tes connaissances remarquables des glossines, m'a facilité le travail sur le terrain, sincère merci

-Mr **Félix, Sana, Kabila** pour leurs sollicitudes

-Mr **ZOUNGRANA et KONKOBO** pour m'avoir initié à l'identification des tiques

-Mr **ZERBO Mathias**, merci pour ta disponibilité et ta sympathie

-Mrs **Guy, Bakoffi, Simon, Denis et Barry** pour l'ambiance à l'insectarium

-A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail

LA LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Cycle biologique de <i>T. brucei s.l.</i>	7
<u>Figure 2</u> : Classification zoologique des glossines.....	11
<u>Figure 3</u> : Représentation Schématique d'une Glossine face dorsale, ailes écartées.....	1
2	
<u>Figure 4</u> : Clé schématique des grands groupes de glossines.....	13
<u>Figure 5</u> : Cycle reproductif d'une glossine	15
<u>Figure 6</u> : Aires de répartition de <i>Glossina morsitans</i> , <i>G. palpalis</i> et <i>G. tachinoides</i> en Afrique.	21
<u>Figure 7</u> : présentation de la zone d'étude.....	38
<u>Figure 8</u> : Points remarquables placés sur les nervures des ailes de glossines étudiées.	44
<u>Figure 9</u> : différentes étapes de l'analyse morphométrique	45
<u>Figure 10</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur 55.3	51
<u>Figure 11</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur A10	51
<u>Figure 12</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur pGp13	52
<u>Figure 13</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur pGp24	52
<u>Figure 14</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur B104	53
<u>Figure 15</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur C102	53
<u>Figure 16</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur pGp1	54
<u>Figure 17</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur GpCAG1..	54
<u>Figure 18</u> : Fréquences alléliques par population du marqueur B110	55
<u>Figure 19</u> : Diagramme représentant les Fis par population	63

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Nombre d'individus utilisé par population.....	41
<u>Tableau II</u> : Taux d'hétérozygotie par microsatellite.....	57
<u>Tableau III</u> : Distances de Mahalanobis obtenues entre les populations mâles..	58
<u>Tableau IV</u> : Distances de Mahalanobis obtenues entre populations femelles.....	61
<u>Tableau V</u> : tableau comparatif des résultats obtenus avec les ailes des mâles et des femelles.....	62
<u>Tableau VI</u> : Tableau complet des Fst, des p-values et de leurs significativités.....	64

LISTE DES PHOTOS

LISTE DES PHOTOS

<u>Photo 1</u> : différents types de galeries.....	23
<u>Photo 2</u> : Pièges bicôniques de Challier et Laveissière.....	25
<u>Photo 3</u> : Ecran bleu imprégné d'insecticide.....	26
<u>Photo 4</u> : Ecran piège.....	26

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1: image satellite de la zone d'étude

Annexe 2 : Localisation de la boucle du Mouhoun dans le triangle cotonnier
Ouest-Africain, zone d'intervention prioritaire contre les trypanosomoses
animales africaines

Annexe 3 : Plan de plaque PCR Licor

A NOS MAITRES ET JUGES

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président de jury,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider notre jury de thèse. Votre abord facile et la spontanéité avec laquelle vous avez répondu à notre sollicitation nous ont beaucoup marqué. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et de notre profonde gratitude. Hommage respectueux.

A notre Maître et Directeur de thèse, Professeur Ayao MISSOHO

Professeur à l'EISMV de Dakar.

Vous avez accepté d'encadrer ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines et d'homme de science suscitent respect et admiration. Soyez rassuré de notre sincère reconnaissance.

A notre Maître, et juge, Professeur, Professeur à l'EISMV de Dakar.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger à ce jury de thèse comme rapporteur. Vos qualités scientifiques et votre simplicité nous ont profondément marqué. Veuillez trouver ici, l'assurance de notre profonde gratitude

A notre Maître et Juge, Monsieur, Maître de conférences agrégé à l'EISMV. de Dakar.

Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar ;

Nous sommes très sensibles à l'honneur que nous vous faites en acceptant de juger ce modeste travail malgré vos multiples occupations.

Soyez assuré de notre profonde gratitude et de notre vive admiration. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères reconnaissances.

A notre co-directeur, Docteur Jérémie BOUYER ;

Vous aviez accepté sans réserve d'initier et d'encadrer ce travail. Votre rigueur scientifique force notre admiration. Sincères merci.

<u>TABLE DE MATIERES</u>	<u>PAGES</u>
DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	iv
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES PHOTOS.....	vi
ANNEXES.....	vi
A NOS MAITRES ET JUGES.....	vii
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
CHAPITRE I : TRYPANOSOMOSES ET TRYPANOSOMES.....	4
I) LES TRYPANOSOMOSES.....	4
I-1) Importance économique des Trypanosomoses Animales Africaine (TAA) (ITARD et al., 2003).....	4
I-1-1) Coûts directs.....	5
I-1-2) Coûts indirects.....	5
II) LES TRYPANOSOMES.....	6
II-1) Taxonomie.....	6
II-2) Cycle biologique.....	6
CHAPITRE II : LES GLOSSINES ET LA LUTTE ANTIVECTORIELLE.....	9
I) LES GLOSSINES.....	9
I-1) Taxonomie.....	9
I-2) Morphologie et écologie des glossines.....	10
I-2-1) Morphologie générale des glossines.....	10
I-2-2) Écologie des glossines.....	14
I-2-2-1) Reproduction et cycle de vie des glossines.....	14
I-2-2-2) Alimentation des glossines.....	16

I-2-2-2-1) Anatomie de l'appareil digestif.....	16
I-2-2-2-2) Nutrition.....	16
I-3) Répartition géographique et habitat des glossines.....	17
II) LUTTE ANTIVECTORIELLE.....	23
II-1) La lutte chimique.....	23
II-2) La technique du lâcher de mâles stériles.....	25
CHAPITRE III : METHODES GENETIQUE DE CARACTERISATION	
DES POPULATIONS.....	26
I-1) Structure de l'ADN.....	26
I-1-1) les nucléotides.....	26
I-1-2) la double hélice.....	27
I-2) Fréquences alléliques, loi de Hardy-Weinberg et notion d'hétérozygotie.....	27
I-3) Paramètres de caractérisation des populations : Fst et Fis.....	28
I-4) Les marqueurs génétiques et leurs utilisations.....	30
I-4-1) Polymorphisme RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et PCR-RFPL.....	30
I-4-2) RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA).....	31
I-4-3) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	32
I-4-4) Loci mitochondriaux et les isoenzymes.....	32
I-4-5) Séquences répétées en tandem ou minisatellites (VNTR) et les microsatellites.....	33
DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTATION.....	36
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.....	37
I) SITES DE TRAVAIL ET ECHANTILLONNAGE.....	37
I-1) Sites de travail et période.....	37
I-2) Echantillonnage.....	38
II) MATERIEL ET METHODES.....	40
II-1) Matériel.....	40

II-1-1) Analyses moléculaires	40
II-1-2) Analyses morphométriques	41
II-2) Méthodes	41
II-2-1) Techniques moléculaires.....	41
II-2-1-1) Les microsatellites utilisés	41
II-2-1-2) Extraction de l'ADN	42
II-2-1-3) La PCR.....	42
II-2-1-4) Dépôt sur LI-COR (migration).....	42
II-2-2) Techniques morphométriques.....	43
III) ANALYSES STATISTIQUES.....	46
III-1) La morphométrie.....	46
III-2) La génétique	46
III-2-1) Estimation des fréquences alléliques.....	46
III-2-2) Taux d'hétérozygotie	47
III-2-3) Les F-Statistiques	48
CHAPITRE II : RESULTATS	50
I) FREQUENCES ALLELIQUES ET HETEROZYGOTIES	50
I-1) Fréquences alléliques.....	50
.....	54
I-2) Taux d'hétérozygoties H	55
II) RESULTATS DE LA MORPHOMETRIE ET DE LA	
GENETIQUE	56
II-1) Résultats de la morphométrie	56
II-1-1) Comparaison des populations mâles	56
II-1-1-1) Comparaison de la population 1 (Bleni) aux quatre autres	
populations	56
II-1-1-2) Comparaison de la population de Samadeni à celles de	
Zamakologo, Minsin et Banzon rizière.....	57

II-1-1-3) Comparaison de la population de Zamakologo aux populations de Minsin et Banzon rizière	58
II-1-1-4) Comparaison de la population de Minsin et Banzon rizière .	58
II-1-2) Comparaison des populations femelles	59
II-2) RESULTATS DE LA GENETIQUE DES POPULATIONS (F-STATISTIQUES).....	60
CHAPITRE III : DISCUSSION	64
I) MORPHOMETRIE	64
II) LA GENETIQUE DES POPULATIONS	66
III : RECOMMANDATIONS	69
CONCLUSION GENERALE	71
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	73
ANNEXES.....	89

INTRODUCTION

La trypanosomose animale africaine est connue aussi sous le nom de « Nagana ». C'est une maladie infectieuse inoculable et non contagieuse, causée par des protozoaires flagellés qui se multiplient dans le plasma sanguin, la lymphe et divers organes des mammifères. En Afrique sub-saharienne, la transmission cyclique des trypanosomes des mammifères est assurée par les glossines ou mouches tsé-tsé (ITARD, 1986). TOURE et MORTELMANS (1991) estiment à 7 millions de km² l'aire de répartition des glossines dont 42% se situent en Afrique de l'Ouest. Les trypanosomoses animales africaines sont donc largement distribuées et affectent 37 pays situés dans les régions potentiellement les plus productives d'Afrique dont 7 millions de savane humide. On estime que 50 millions de bovins et 70 millions de petits ruminants y sont exposés. Les pertes annuelles de viande sont estimées à près de 5 milliards de dollars américains (MORTELMANS, 1986). La productivité du bétail et l'utilisation des animaux pour l'agriculture (engrais, traction) s'en trouvent donc affectées. Au Burkina Faso, comme dans la plupart des pays Ouest-Africains au Sud du Sahara, les trypanosomoses animales sont considérées comme la contrainte pathologique majeure à l'élevage du bétail (HURSEY et SLINGENBERGH, 1995 ; SWALLOW, 1998 ; SHAW, 2003). Il est alors impératif de lutter contre cette maladie. D'après CUISANCE et al. (2003), l'un des moyens de contrôle de cette maladie est la lutte contre les vecteurs. Le contrôle des mouches tsé-tsé peut être réalisé par une série de techniques, parmi lesquelles les pièges, les écrans imbibés d'insecticide, la pulvérisation aérienne séquentielle, et le lâcher des mâles stériles (CUISANCE et al., 2003). Dans la plupart des cas, cependant, les mouches tsé-tsé tendent alors à subsister, en raison de la survie de certaines d'entre elles après les interventions ou des mouches venant des régions non traitées, ou les deux (POLITZAR et CUISANCE, 1984). Selon BOUYER (2006), les différents échecs enregistrés étaient liés à un manque de

connaissances approfondies de l'écologie des glossines. La connaissance de l'écologie des glossines est donc primordiale pour comprendre l'épidémiologie de la maladie, et ainsi choisir un moyen efficace de lutte. Il pourrait s'agir du contrôle en dessous du seuil de transmission des trypanosomes ou de la suppression définitive d'une population de glossine, qui ne sera possible que si cette population de glossine est complètement isolée. C'est donc, dans ce cadre que s'inscrit la plupart des études menées au CIRDES et en particulier la notre.

Aussi ce travail se fixe t'il comme objectif global, l'étude de la structuration des populations de glossines du Mouhoun par rapport aux bassins adjacents en vue d'une amélioration de l'efficacité de la lutte anti-glossinienne. Pour répondre à cet objectif, nous allons essayer de répondre à ces différentes questions : les populations récoltées au niveau du Mouhoun sont t'elles isolées de celle du Niger ? Si oui, de quelle manière ? Si non, quelle est la nature des échanges entre les populations de ces deux zones ? Par ailleurs on peut aussi se poser la question suivante : y a t-il une structuration entre les différentes populations récoltées sur le Mouhoun ? La réponse à ces différentes questions permettra alors d'atteindre l'objectif spécifique.

Ce travail s'organise en deux grandes parties : une première qui présente des généralités sur les glossines, leur environnement et quelques principes fondamentaux de l'écologie et plus particulièrement de génétique des populations. La deuxième partie de cette étude présentera le matériel et les méthodes utilisées, les résultats, suivis de la discussion et enfin d'une conclusion.

PREMIERE PARTIE :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : TRYPANOSOMOSES ET TRYPANOSOMES

I) LES TRYPANOSOMOSES

Les trypanosomoses sont des affections parasitaires provoquées par des protozoaires flagellés pathogènes, appartenant à la famille des trypanosomatidae et au genre *Trypanosoma*, qui se multiplient dans le plasma sanguin, la lymphe et divers organes des mammifères. Ce sont des maladies infectieuses, inoculables, non contagieuses, à l'exception de la dourine, trypanosomose vénérienne des équidés. Elle évolue le plus souvent, sous une forme chronique anémianté conduisant à la cachexie et à la mort. La transmission à l'hôte mammifère est, généralement, réalisée par un insecte hématophage qui peut être soit un simple vecteur « mécanique » comme les tabanidés ou les stomoxynés, soit un vecteur « biologique » tel que les glossines ou les réduves chez lesquelles le parasite accomplit une évolution cyclique plus ou moins complexe avant d'être transmis à l'hôte définitif. Les trypanosomoses sont dans la majorité des cas, des maladies des zones tropicales et intertropicales d'Afrique, d'Amérique et d'Asie.

I-1) Importance économique des Trypanosomoses Animales Africaine (TAA) (ITARD et al., 2003)

L'impact économique des TAA a surtout été étudié en Afrique subsaharienne ; dans les autres continents, quelques études économiques ponctuelles existent sans qu'il ne soit possible d'en généraliser les résultats. En Afrique subsaharienne, on estimait en 1997, qu'il y avait 142 millions de bovins produisant 2,9 millions de tonnes de viande et 12 millions de tonnes de lait.

Parmi ceux-ci, 46 millions de bovins, qui vivent en zones plus ou moins infectées par les tsé-tsé produiraient 0,8 million de tonne de viande et 2,3 millions de lait. La surface occupée par les glossines équivaut à la superficie des Etats-Unis ou à celle de l'Europe de Dublin à Moscou, soit environ 8,5 millions de km², repartis entre 37 pays.

I-1-1) Coûts directs

Les impacts directs les plus importants sont visibles sur les taux de fécondité et sur la mortalité des jeunes. Chez les animaux trypanotolérants, le taux de vêlage est réduit de 1 à 12 % et de 11 à 20 % chez les bovins sensibles. Les taux de mortalité sont augmentés de 0 à 10 % chez les premiers et de 10 à 20 % chez les seconds. Chez les bovins trypanotolérants, la production de lait est réduite de 10 à 26 %. Chez les petits ruminants, le taux de naissance est réduit de 4 à 38 % chez les brebis et de 37 % chez les chèvres.

I-1-2) Coûts indirects

Le principal coût indirect est celui de la non utilisation des terres. Dans les zones subhumides exemptes de glossines, la charge en bétail est estimée à 9,9 UBT par km² (1 unité bétail tropical équivaut à un bovin de 250 kg) ; dans les zones infectées par les tsé-tsé, elle est de 6,2 UBT par km². C'est dire que la suppression de la TAA permettrait une croissance du troupeau de 35 millions de têtes produisant 500000 tonnes de viande et 1,4 millions de tonnes de lait. Les coûts de l'éradication du contrôle des glossines sont extrêmement variables selon les systèmes de production et selon les données des campagnes, mais aussi selon les rubriques prises en compte, qui sont hétérogènes entre les différentes études, malgré des essais de standardisation des données sous l'égide de la FAO. Pour éviter un biais dû aux variations des coûts des monnaies dans le temps, les différents coûts sont exprimés en dollars américains (1987). Après avoir mené

des campagnes « clé en mains », on a de plus en plus impliqué les éleveurs, ce qui tendait à pérenniser l'action. Des enquêtes menées au Burkina Faso et en Côte-d'Ivoire ont montré que les éleveurs étaient prêts, en 1994, à payer 0,4 dollar américain par tête de bétail et par an, et à contribuer, pour une famille, à l'équivalent du travail d'un homme pendant une semaine par mois pour lutter contre les glossines, quelle que soit la méthode de lutte.

II) LES TRYPANOSOMES

II-1) Taxonomie

Les trypanosomes appartiennent à l'ordre des *Kinétoplastida*, à la famille des *Trypanosomatidae* et au genre *Trypanosoma*. Ce sont des protozoaires flagellés qui vivent dans le plasma sanguin, la lymphe et divers tissus de leurs hôtes. Au Burkina Faso en particulier, les trypanosomes infectant les animaux sont *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* (**BRODEN, 1904**), *T. (Duttonella) vivax* (**ZIEMANN, 1905**) et *T. (Trypanozoon) brucei* sensu lato (**PLIMMER et BRADFORD, 1899**). *T. vivax* atteint essentiellement les ruminants domestiques, les équidés et les camélidés. *T. vivax* est facilement transmis mécaniquement par les Stomoxes et les Tabanidés (**DESQUESNES et DIA, 2003a, c, 2004**). Sa répartition est donc plus large que celle des glossines, puisqu'on le retrouve sur d'autres continents.

II-2) Cycle biologique

Lors de son repas sanguin sur un mammifère parasitémique, la glossine absorbe les formes trypomastigotes courtes. Le sang infecté passe au bout de 10 minutes dans l'intestin moyen de la glossine, puis arrive dans l'espace endopéritrophique. Il y a transformation des formes courtes en formes allongées

(trypomastigotes procycliques). Celles-ci perdent leur membrane de glycoprotéine et deviennent non infectieuses. Elles connaissent une multiplication très active vers le 3^{ème} – 4^{ème} jour pour *T. brucei* et vers le 10^{ème} jour pour *T. congolense*, et se maintiennent environ deux (2) mois. Les formes procycliques de *T. congolense* passent ensuite dans l'espace ectopéritrophique, puis gagnent l'œsophage, le pharynx, et enfin le canal alimentaire. Elles se fixent sur les parois du labre et se transforment en épimastigotes. Ces formes pénètrent dans l'hypopharynx, se transforment en métatrypanosomes (formes métacycliques) infectants revêtus de la glycoprotéine de surface (**figure 1**).

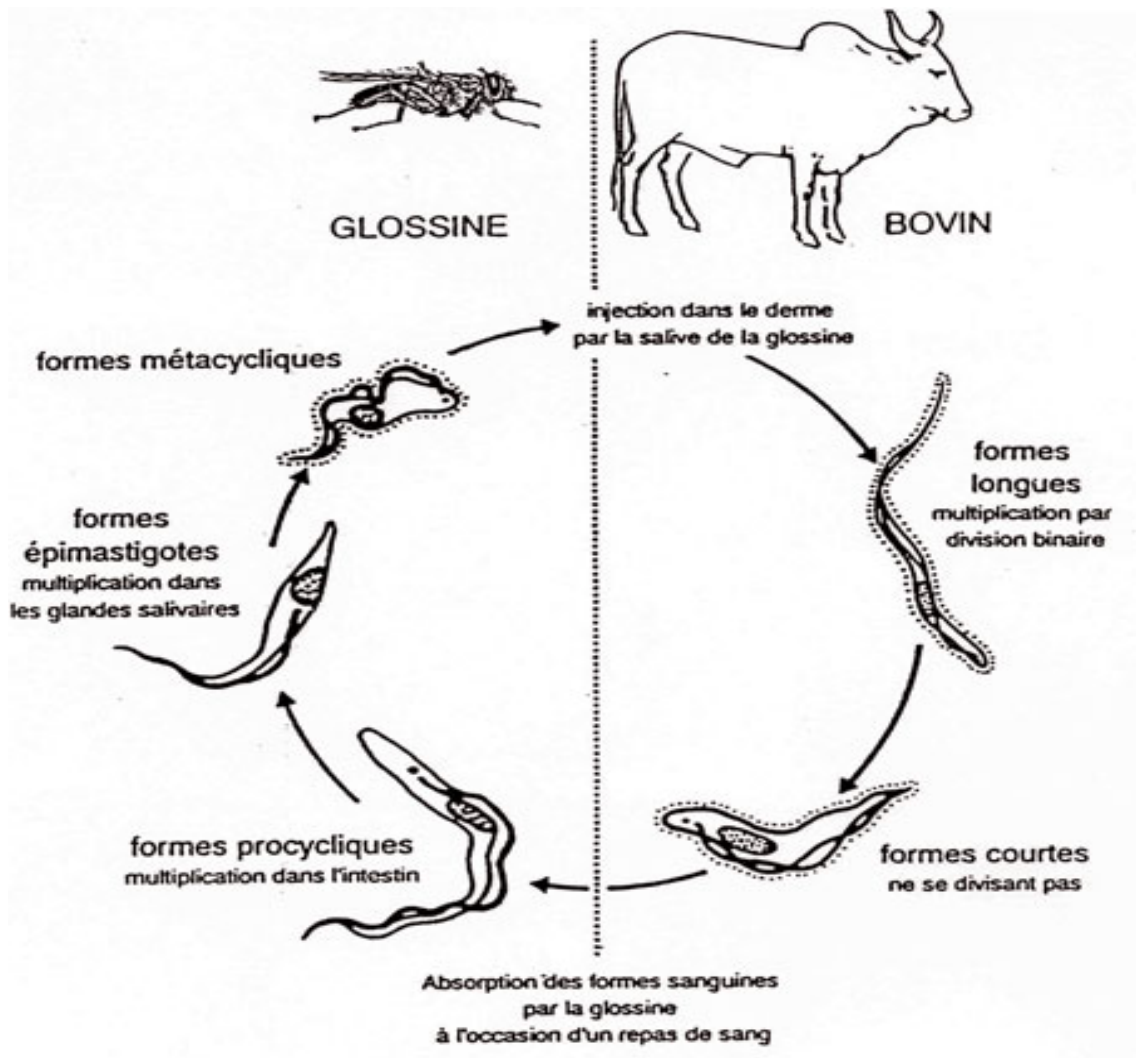


Figure 1: Cycle biologique de *T. brucei s.l.*

Source : <http://www.futura-sciences.com/comprendre/d/dossier664-1.php>

Pour *T. vivax*, la totalité du cycle se déroule dans le proboscis (labre et hypopharynx). Après un repas sanguin infectant, les trypanosomes ayant pu se fixer sur la paroi du labre se multiplient activement sous forme épimastigote. Les autres, qui sont entraînés avec le sang dans l'intestin, dégèrent et meurent. Les formes épimastigotes se détachent de la paroi du labre, pénètrent dans l'hypopharynx et se transforment en trypomastigotes métacycliques infectants. A l'occasion d'un nouveau repas sanguin, la glossine injecte dans le derme du mammifère les formes métacycliques infectieuses présentes dans ses pièces buccales. Les métacycliques se multiplient au point d'inoculation pendant plusieurs jours en déterminant parfois une réaction inflammatoire appelée "trypanome". Les trypanosomes migrent par voie lymphatique vers le ganglion de drainage et sont détectables dans la lymphe efférente de ce ganglion quelques jours avant leur détection dans le sang (**EMERY et al., 1980 ; AKOL et MURRAY, 1986**). La durée de la période prépatente (de l'inoculation à la détection du parasite dans le sang) varie généralement de 1 à 3 semaines, en fonction de l'espèce et de la souche de trypanosomes injectées et de l'état immunitaire de l'hôte (**CLAUSEN et al., 1993**). Les trypanosomes évoluent dans le sang par « vagues parasitémiques » correspondant à des phénomènes « d'échappement » aux défenses immunitaires de l'hôte. Ces phénomènes sont contrôlés par la glycoprotéine superficielle variable (ou GSV).

Notons que la proximité des animaux dans un élevage ou à un point d'abreuvement favorise la transmission mécanique des trypanosomes par les insectes hématophages. Aussi, la transmission de *T. vivax* et de *T. evansi* est assurée par les tabanides et les stomoxes. La transmission mécanique de *T. brucei*, *T. congolense* et de *T. simiae* est reconnue, mais les données épidémiologiques manquent pour en confirmer l'importance. Par ailleurs, tous les trypanosomes peuvent être transmis de manière iatrogène par des aiguilles souillées de sang. Ce phénomène doit être pris en compte lors de prophylaxies collectives.

CHAPITRE II : LES GLOSSINES ET LA LUTTE ANTIVECTORIELLE

I) LES GLOSSINES

I-1) Taxonomie

Les glossines sont des diptères brachycères cycloraphes, schizophores, calyptérates, proches des muscidae. La glossine, du genre *Glossina*, appartient à l'embranchement des Arthropodes, à l'ordre des Diptères et à la famille des *Muscidae* piqueurs à trompe dure portée horizontalement vers l'avant. Elle est communément appelée « mouche tsé-tsé », et est un véritable vecteur des trypanosomes typiquement africains (ITARD, 1946).

Une famille a été créée pour ces insectes : les glossinidae, qui comprend un seul genre, le genre *Glossina*. Ce genre ne renferme que des insectes hématophages dans les deux sexes. Ils sont très proches des *stomoxynae* et ils diffèrent, comme eux, des autres *Muscidae* par l'adaptation de leurs pièces buccales à la piqûre. Ils se caractérisent, en outre par leur mode de reproduction, ce qui les rapproche des diptères pupipares hématophages (*Hippobosca*, *Melophagus*). Trente et une (31) espèces et sous espèces ont été décrites (figure 2). Elles ne sont présentes qu'en Afrique au sud du sahara ou elles occupent une superficie d'environ 10 millions de km² (ITARD et al., 2003).

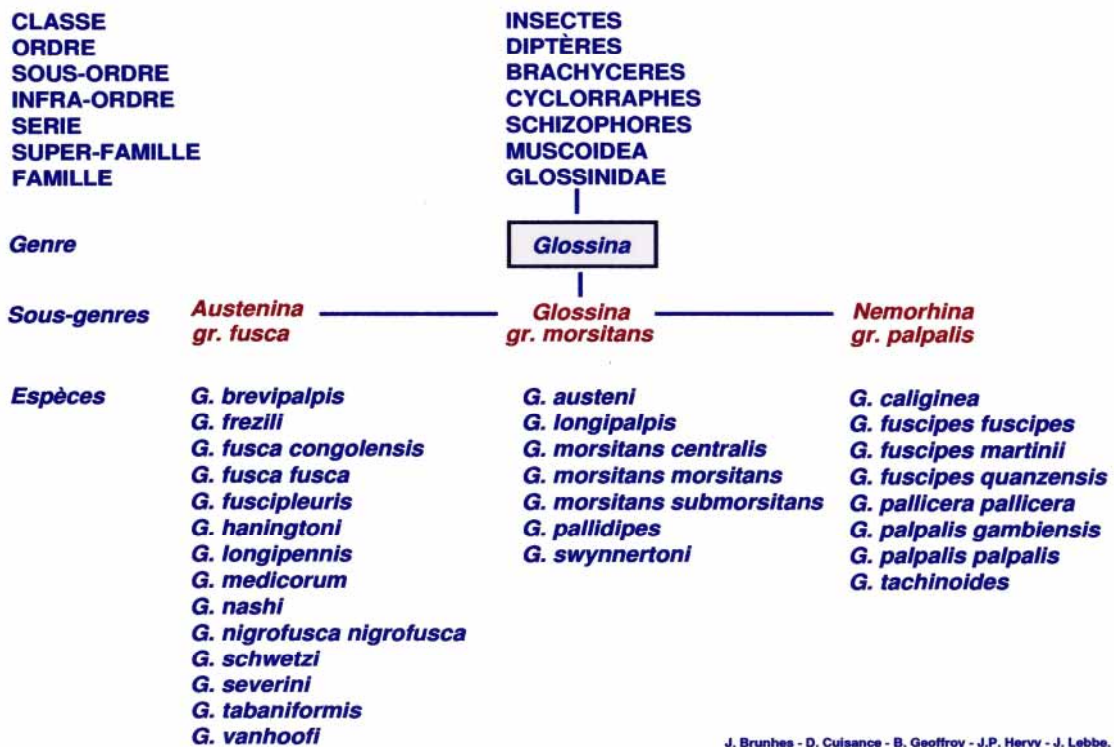


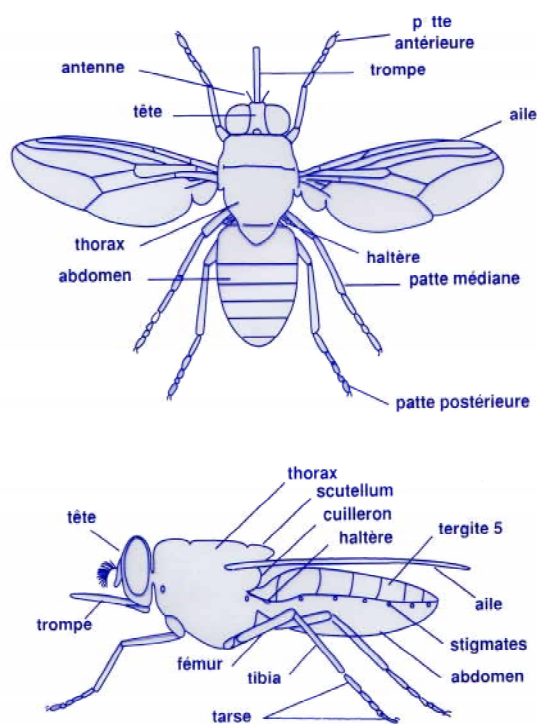
Figure 2 : Classification zoologique des glossines

I-2) Morphologie et écologie des glossines

I-2-1) Morphologie générale des glossines

La morphologie générale des glossines est celle des mouches (**figure 3**). Elles diffèrent cependant de la plupart des autres Muscoïdæ par l'adaptation de leurs pièces buccales à la piqûre, ce qui les fait classiquement ranger dans le groupe des « muscoïdes piqueurs », auquel appartiennent les stomoxyinae (haematobia, Stomoxys,...) (**TRONCY et al., 1981**). Les glossines sont des mouches allongées robustes, de coloration brun noirâtre à brun testacé, jamais métallique. Leur longueur, sans la trompe, est comprise entre 6 et 16 mm. Les mâles sont généralement un peu plus petits que les femelles. Les ailes sont hyalines ou légèrement enfumées. Ce sont des espèces de taille moyenne (8 à 11mm), à abdomen généralement avec des taches sombres sur fond clair jaunâtre. Les tarses des pattes postérieures ont seulement les deux derniers

segments recouverts de poils noirs (on parle de “chaussette”). Les génitalia mâles ont les forcipules supérieurs très renflés à l’apex, réunis par une membrane connective réduite. On observe une paire de plaques anales fusionnées et une plaque sternale sur les génitalia femelles. Le sous-genre *Glossina* comprend 5 espèces avec 3 sous-espèces. On y rencontre des espèces telles que *Glossina longipalpis* WIEDEMANN, 1830 ; *Glossina morsitans submorsitans* NEWSTEAD, 1910 au Burkina Faso.



Source : J.N. POLLOCK, Manuel de lutte contre la mouche Tse-tse

Figure 3 : Représentation Schématique d’une Glossine face dorsale, ailes écartées et vue latérale.

Chez les glossines, les deux sexes sont hémato-phages. Le corps comprend trois parties (**figure 4**) :

- la tête : elle est large, à peine plus étroite que le thorax. Elle comprend une paire de grands yeux composés situés de chaque côté, plus un groupe de trois ocelles entre les yeux composés. La tête porte également les pièces buccales (labre, labium, hypopharynx) dont l’ensemble forme la trompe ou proboscis.

Située à la base de la tête, la trompe est longue, fine, dirigée vers l'avant au repos, et protégée par les palpes maxillaires. Au moment de la piqûre, la trompe est abaissée verticalement, tandis que les palpes maxillaires restent horizontaux.

- le thorax porte une paire d'ailes, hyalines ou légèrement enfumées, qui présentent une nervation constante et caractéristique avec une cellule discale en forme de hache. En dessous et en arrière des ailes, il existe une paire d'haltères ou balanciers, organes d'équilibration. Au repos, les ailes sont croisées l'une sur l'autre, au-dessus de l'abdomen, dont elles dépassent l'extrémité postérieure. Le thorax porte également trois paires de pattes.

- l'abdomen est composé de 8 segments dont 7 visibles dorsalement. Chaque segment comprend une plaque dorsale ou tergite, et une plaque ventrale ou sternite. L'abdomen se termine par les génitalia (8^{ème} segment abdominal), appareil reproducteur externe du mâle et de la femelle, dont la forme et les dimensions sont caractéristiques des espèces et sous-espèces.

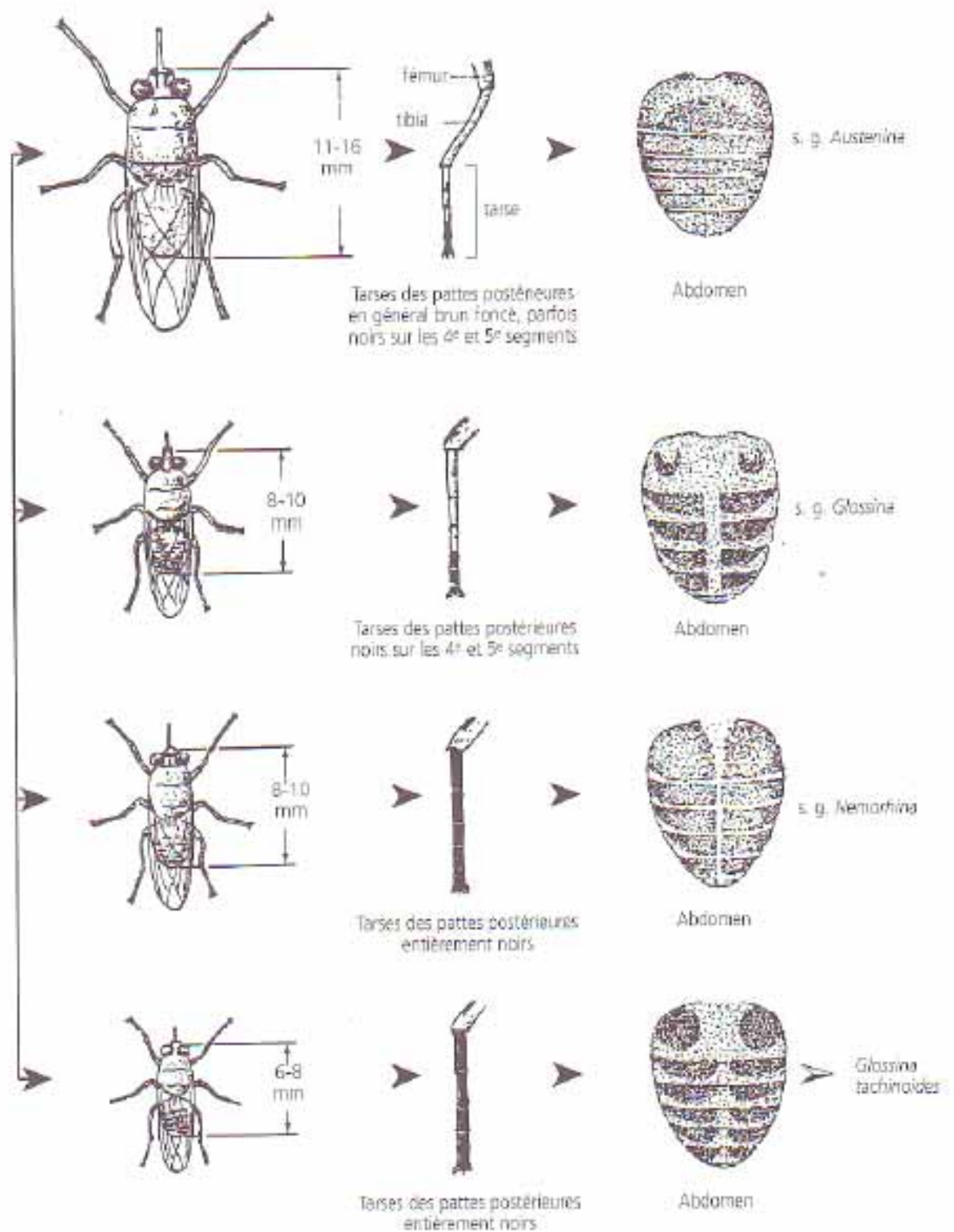


Figure 4: Clé schématique des grands groupes de glossines (CHARTIER et al., 2000).

I-2-2) Ecologie des glossines

I-2-2-1) Reproduction et cycle de vie des glossines

Les glossines se distinguent par le fait qu'elles sont vivipares, c'est-à-dire qu'elles accouchent d'une larve et ne pondent pas des œufs comme beaucoup de mouches qui sont ovipares (**LAUNOIS et al., 2004**).

Elles s'accouplent précocement, en général avant la prise de leur premier repas de sang (environ 2 à 3 jours chez la femelle et 6 à 8 jours chez le mâle) (**HOWELL, 1967 ; POLLOCK, 1982**). Cet accouplement se produit, le plus fréquemment en captivité, à l'âge de 2 à 3 jours pour les femelles adultes et à partir du 7^{ème} et 8^{ème} jour pour les mâles. Les mâles peuvent effectuer jusqu'à 12 à 15 accouplements si ceux-ci sont espacés, mais le pouvoir fécondant diminue à partir du 6^{ème} et 7^{ème} accouplement (**TRONCY et al., 1981**). Selon **ITARD (1986 ; 2000)**, la femelle ne s'accouple qu'une fois ou un nombre limité de fois (0,7% de femelles acceptant un nouvel accouplement) en début de son existence. Selon cet auteur après la première ovulation, un phénomène physiologique empêche le sperme d'atteindre les spermathèques. Les spermatozoïdes émis au cours de l'accouplement ont une capacité de survie d'environ 200 jours. L'accouplement est généralement assez long et dure d'une demi-heure à 1 à 3 heures, temps nécessaire au mâle pour synthétiser le spermatophore.

Les glossines ont un cycle de vie long et complexe, qui comprend une phase larvaire intra-utérine longue (3 stades larvaires restant en position utérine et alimentés par une glande lactifère pendant environ 10 jours), une phase larvaire dans le milieu extérieur de seulement quelques heures suivie d'une pupaison rapide à 2 à 8 cm de profondeur dans le sol (**ITARD et al., 2003**). La durée de pupaison qui comprend la transformation en larve LIV puis la métamorphose en adulte, est très variable en fonction de la température (20 à 80 jours selon la saison et l'espèce). Elle est en moyenne de 30 j en élevage à 25°C. Cette durée est plus courte de 2 à 4 j chez la femelle (**ITARD 1986, 2000 ; CUISANCE, 2001**). Le rythme de reproduction d'une glossine est lent. La

femelle ne donne naissance à une larve que tous les 10 jours. Celle-ci ne devient adulte qu'après une pupaison qui peut durer parfois plus d'un mois (**figure 5**). La durée du cycle biologique fait qu'une femelle n'engendre que six à huit descendants en une centaine de jours. Cette faible fécondité pour un insecte n'est pas un obstacle démographique car le taux de mortalité aux différents stades du développement reste faible. Le taux maximal d'accroissement des populations est de 2 % par jour, ce qui permet un dédoublement des effectifs tous les 35 jours dans des conditions optimales de développement. En cas de destruction quasi-totale d'une population, les peuplements se reconstituent à partir des survivants et des immigrants en un peu plus d'un an (**LAUNOIS et al., 2004**).

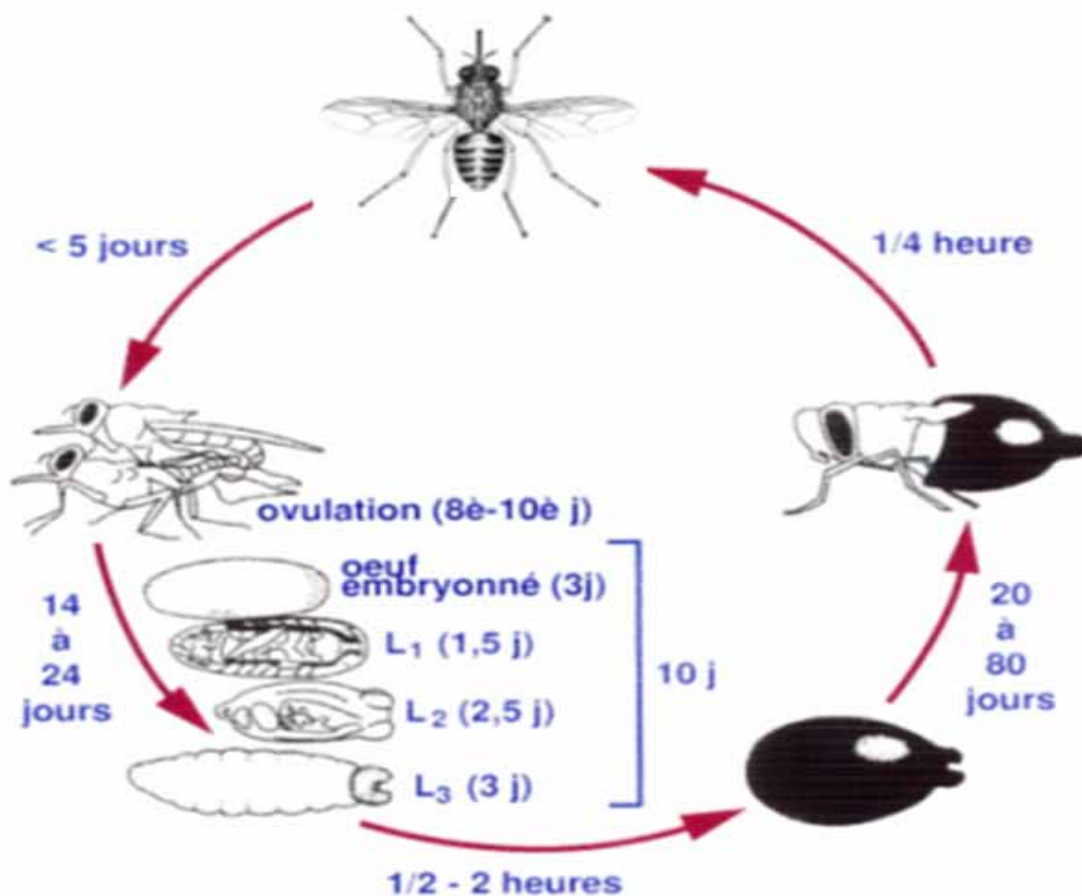


Figure 5 : Cycle reproductif d'une glossine

I-2-2-2) Alimentation des glossines

I-2-2-2-1) Anatomie de l'appareil digestif

L'appareil digestif des glossines est adapté à la consommation et à la digestion du sang qui constitue leur unique source de nourriture (**ITARD, 1986**). Le tube digestif comprend : le canal alimentaire, le pharynx, l'œsophage, le jabot, le proventricule, l'intestin antérieur, l'intestin postérieur, les tubes de Malpighi et le rectum. Les glandes annexes du tube digestif sont constituées principalement de deux glandes salivaires qui se situent dans l'abdomen et débouchent dans le canal alimentaire. L'appareil excréteur de la glossine est constitué par des tubes situés au dessus des intestins et qui sont appelés tubes de Malpighi. Ces tubes assurent essentiellement l'excrétion des déchets métaboliques après le repas.

I-2-2-2-2) Nutrition

Chez les glossines, les deux sexes sont hématophages. Les mâles prennent en moyenne, un repas de sang tous les quatre jours, avec une périodicité variable. Les femelles prennent en général trois (3) repas importants au cours de la gestation : l'un précède immédiatement la mue intra utérine entre les 2^{ème} et 3^{ème} stades larvaires; le deuxième est pris à un moment variable au cours de la gestation ; le troisième suit immédiatement la ponte de la larve (**ITARD et CUISANCE, 2003**). Le repas de sang est un élément indispensable à la vie d'une mouche tsé-tsé car tout son cycle biologique en dépend : la fécondité des adultes, l'activité ovarienne, le développement de la larve, l'achèvement de la croissance du jeune imago, le stockage des graisses pour les jours difficiles. Trouver un hôte nourricier est la première préoccupation d'une mouche ténérale, c'est-à-dire à téguments mous (**LAUNOIS et al., 2004**). Quelque soit le sexe, une mouche qui vient d'éclore ne prend son premier repas qu'entre 12 et 24h après l'éclosion. Ce premier repas est toujours plus petit que les suivants

(ITARD et al., 2003). Habituellement, une mouche repère un animal hôte par son odorat, à une distance pouvant atteindre 100 mètres. Les animaux hôtes de plus grande taille ou en plus grand nombre attirent davantage la tsé-tsé que les animaux plus petits ou les sujets isolés. Quant elle flaire l'hôte, la mouche se place contre le vent, ce qui lui permet de se rapprocher de l'animal. Elle est alors capable de voir l'hôte (à 50 mètres ou plus). Après s'être posée sur son hôte (homme ou animal), la glossine abaisse son proboscis et l'enfonce dans le tissu cutané, les palpes maxillaires restant horizontaux. La peau est percée grâce aux mouvements alternatifs et rapides des labelles ce qui provoque des traumatismes intratissulaires aboutissant à la formation d'un microhématome dans lequel est injecté la salive qui s'écoule à l'extrémité de l'hypopharynx. Elle empêche la coagulation du sang et véhicule des métatrypanosomes si la mouche est infestée. La durée du repas est variable, mais généralement de l'ordre de 20 à 30 secondes. *Glossina tachinoides* absorbe en moyenne 7 mg (mâle) et 12 mg (femelle) de sang. Aussitôt après la fin du repas, la mouche élimine par l'anus, son excédent d'eau sous forme d'une grosse goutte claire qui peut contenir des trypanosomes à cycle antérograde ou postérograde. La digestion est ainsi accomplie entre 24 et 72h. Les résidus de la digestion sont évacués par l'anus sous forme d'une pâte semi-fluide de couleur brun sombre **(ITARD et CUISANCE, 2003).**

I-3) Répartition géographique et habitat des glossines

Si depuis 20 millions d'années, les glossines étaient présentes sur le continent nord-américain ou l'on a retrouvé dans les argiles schisteuses du Colorado quatre espèces fossiles *Glossina oligocena*, *G. osborni*, *G. veterna* et *G. armatipes* ; aujourd'hui toutes les espèces sont confinées à l'Afrique. En dehors de ce continent, les glossines n'ont été rencontrées que ponctuellement dans l'oasis de Gisan en Arabie Saoudite et dans l'île du Zanzibar **(LAUNOIS**

et al., 2004). Les différentes espèces de glossines sont exclusivement africaines (pas de glossines à Madagascar). La limite Nord de leur aire de répartition suit approximativement le 15° de latitude Nord. La limite Sud correspond à peu près au 20° de latitude Sud, mais s'infléchit le long de la côte orientale de l'Afrique, jusqu'au 30° de latitude Sud (**TRONCY et al., 1981**). Selon **LAURE et al. (2005)**, les biotopes des glossines sont caractérisés par des paramètres relatifs à la végétation, l'hydrologie, la présence d'hôtes, lesquels paramètres sont influencés par les activités anthropiques. L'écoclimat normal correspond à celui des zones boisées situées dans les régions recevant plus de 1000 mm de pluies. Les glossines ne sont donc habituellement pas présentes dans les régions où la moyenne des pluies est inférieure à 600 mm ; elles peuvent, cependant, exister dans les parties septentrionales à pluviosité un peu inférieure, comme par exemple le long du réseau hydrographique au sud du lac Tchad. L'aire de distribution des glossines ne s'étend pas au-delà des limites où les températures sont ou trop basses ou trop élevées. Elles sont limitées dans leurs extensions par le déficit hygrométrique trop important au nord, le froid limite leur dispersion vers le Sud et dans les zones d'altitude. Les glossines n'habitent en effet que les régions où les températures moyennes annuelles dépassent 20°C. L'optimum thermique est, pour la majorité des espèces, de 25°. A partir de 30-32°C, la mortalité devient très importante. S'il ne fait aucun doute que les facteurs climatiques tels que température, hygrométrie relative, taux d'évaporation ont un rôle majeur, la végétation, par le microclimat qu'elle crée, peut modérer l'impact de ces facteurs (**NASH 1937, 1948 ; DAVIES 1967 ; CHALLIER 1973 ; MOREL 1978 ; TERRIBLE 1983 ; ROGERS et RANDOLPH 1991 ; ROGERS et RANDOLPH 1993 ; ROGERS et al. 1996**). Dans chaque zone de végétation, les communautés végétales diffèrent en fonction des conditions climatiques, édaphiques, géomorphologiques et géologiques. Il en résulte une variété d'écosystèmes qui peuvent fournir des habitats ou les différents facteurs de l'environnement (température, humidité, écran aux radiations solaires,

protection contre les vents, lumière, nourriture) restent à l'intérieur des limites extrêmes de tolérance au-delà desquelles une espèce donnée de glossine ne peut vivre (TRONCY et al., 1981). Les glossines sont donc étroitement liées à la végétation qui forme un écran aux radiations solaires et au vent, elle-même tributaire de la présence d'eau de surface ou souterraine. La nature et la densité de la canopée et du sous-bois influent sur la température, l'humidité, la luminosité, la facilité de vol, ainsi que sur la présence d'animaux domestiques et/ou sauvages sur lesquels s'alimentent les mouches tsé-tsé. Dans ces groupements végétaux, les glossines peuvent être présentes toute l'année ou au cours de certaines saisons seulement.

La végétation joue donc un rôle très important dans la répartition des différents groupes de glossines :

- Le groupe palpalis

Il regroupe 9 espèces de petite taille qui se rencontrent principalement dans les zones humides, en bordure de rivières ou de mares, dans les mangroves, au bord des dépressions salées, dans les galeries forestières et les bois sacrés. Les plantations de café, de cacao, de manguiers et de bananiers leur fournissent de nouveaux habitats. La limite septentrionale de l'aire de distribution de *Glossina palpalis gambiensis* suit de près l'isohyète des 1 000 mm du Mali au Togo. Dans la région de Dakar, au Sénégal, la glossine fréquente une zone à faible pluviosité et à degré hygrométrique élevé par suite des vents humides de la mer.

Au sud, l'aire de distribution est délimitée par une végétation plus épaisse où *G. p. gambiensis* est remplacée par *G. p. palpalis*, qui lui ressemble beaucoup (figure 6 et photo 1).

- Le groupe morsitans

Il comprend 7 espèces de taille moyenne colonisant de préférence les savanes boisées, les fourrés denses et à un degré moindre les forêts claires. Elles survivent aussi bien en brousse sèche qu'en forêt humide. On trouve *Glossina morsitans* dans les régions de l'Afrique tropicale où la température annuelle

moyenne se situe entre 19° et 28°C et où l'atmosphère n'est ni très humide ni très sèche (**figure 6 et photo 1**). Cette espèce-se divise en trois sous-espèces:

Glossina morsitans submorsitans ; son aire de distribution forme une ceinture intermittente qui traverse l'Afrique, d'ouest en est, depuis la Gambie et le Sénégal, jusqu'à l'Ethiopie et l'Ouganda. Les conditions optimales de température pour cette espèce sont comprises entre 24° et 26°C.

Glossina morsitans morsitans ; cette tsé-tsé est très répandue en Afrique de l'Est, depuis le Mozambique au sud jusqu'en Tanzanie septentrionale au nord. Les meilleures conditions de température sont comprises entre 21,5° et 24°C.

Glossina morsitans centralis ; son aire de distribution s'étend sur l'Afrique Centrale, englobant certaines parties du Botswana, de l'Angola, du Zaïre, de la Zambie, du Rwanda, du Burundi, de l'Ouganda et de la Tanzanie. Etant donné que cette glossine est séparée de *G.m. morsitans* par un bassin versant relativement étroit, elle a probablement besoin des mêmes conditions climatiques que cette sous-espèce.

A la lisière de son aire de distribution, la population de glossines se concentre dans les parties les plus fraîches et les plus humides de son habitat afin d'échapper aux effets les plus nocifs de la saison chaude. Par conséquent, dans ces zones, la tsé-tsé peut se comporter en mouche ripicole pendant la saison chaude.

- Le groupe *fusca*

Il rassemble 15 espèces de grande taille qui vivent dans les forêts ombrophiles et mésophiles, les galeries forestières larges et denses et les mosaïques forêt-savane sans vocation pastorale.

L'aire de distribution de cette espèce recouvre principalement le Kenya et la Tanzanie septentrionale, mais elle occupe aussi quelques îlots dans le sud du Soudan, en Ethiopie méridionale et en Somalie.

- Le groupe *tachinoides*

Glossina tachinoides occupe, en Afrique Occidentale, une bande limitée au nord par le 13^{ème} ou 14^{ème} degré de latitude nord, et, au sud, par la bordure nord de la forêt dense humide. La limite Ouest se trouve en Guinée; l'aire de distribution s'étend, vers l'est, à travers l'Afrique occidentale, jusqu'au sud ouest du Tchad et au nord ouest de la République centrafricaine. Il existe en outre de petites aires isolées dans l'ouest de l'Ethiopie.

On trouve habituellement *Glossina tachinoides* dans les forêts-galeries et son aire de distribution correspond au réseau des lignes de drainage et des cours d'eau où poussent ces forêts-galeries (**figure 6, et photo 1**).

Cette végétation dense atténue l'effet rigoureux de climat et produit des conditions de microclimat (du point de vue de la température, du degré hygrométrique et de la luminosité) qui conviennent mieux à la vie de la tsé-tsé (**TRONCY et al., 1981**).

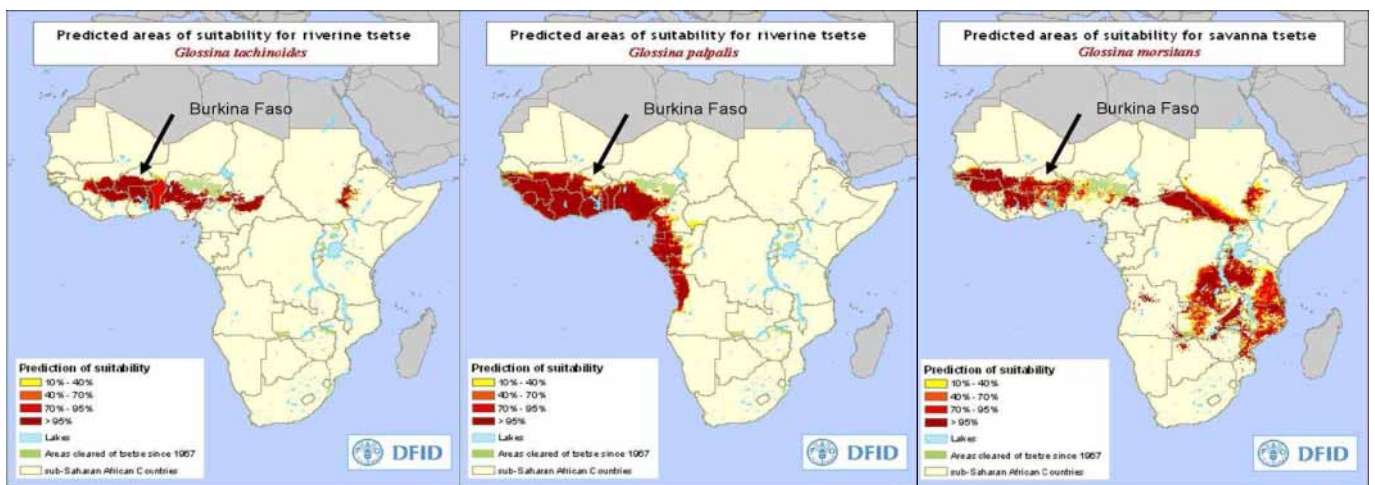


Figure 6 : Aires de répartition de *Glossina morsitans*, *G. palpalis* et *G. tachinoides* en Afrique.

Source : FAO PAAT-IS



Ecotype guinéen conservé
(Dingasso, Bobo Dioulasso)



Ecotype guinéen semi-dégradé
(Banzon, Bobo Dioulasso)



Ecotype guinéen dégradé
(Ndorolla)



Ecotype soudanien semi-dégradé (sur le Mouhoun).

Photo 1 : différents types de galeries

Source : DOMAGNI (2008)

II) LUTTE ANTIVECTORIELLE

Les trypanosomoses animales restent une des principales contraintes pathologiques pour le développement de l'élevage en zone soudanienne. Le contrôle de ces parasitoses repose en grande partie sur la lutte contre leurs vecteurs majeurs, les glossines. Différentes méthodes et stratégies sont utilisables, comme l'aspersion d'insecticide sur les habitats préférentiels, le lâcher de mâles stérilisés artificiellement, l'application d'insecticides sur les animaux ou l'utilisation de leurres attractifs (écrans et pièges) imprégnés. Le choix de ces différentes méthodes dépend des espèces visées, de leur écologie et du contexte socio-économique du programme de lutte. Ainsi donc les outils de lutte contre les glossines se déclinent selon trois grandes classes : les méthodes biologiques, l'utilisation de lâchers de mâles stériles (TIS) et les méthodes chimiques. Pour l'heure, les méthodes biologiques basées sur l'utilisation de prédateurs, de parasites (champignons, virus, toxines de *Bacillus thuringiensis* (Bti),...) ou de parasitoïdes sont encore limitées au stade expérimental.

II-1) La lutte chimique

Le traitement de l'environnement par des insecticides rémanents, par pulvérisation terrestre ou aérienne (avions et hélicoptères) des sites de repos des glossines a permis des succès importants. Ses effets potentiels sur la faune non-cible, même si la plupart des suivis environnementaux réalisés avant et après ces traitements ont montré une grande capacité de résilience des écosystèmes Africains. Les coûts très élevés tendent à les faire abandonner par les bailleurs, notamment en Afrique de l'Ouest. Elles sont remplacées par la pulvérisation aérienne de pyréthrinoïdes, insecticides non rémanents, notamment dans le delta de l'Okavango au Botswana, où elles auraient récemment permis d'obtenir une éradication de *Glossina morsitans centralis*. Elles sont alors remplacées par une lutte chimique beaucoup plus ciblée, pratiquement sans effets directs pour la faune non cible car utilisant des supports imprégnés d'insecticides, permettant

de limiter toute contamination environnementale (il existe cependant des effets indirects par ouverture de nombreuses pistes avec accroissement rapide du braconnage et des prélèvements de bois). Ses supports sont :

- les pièges, enceintes composées de couleurs attractives (bleu phtalogène pour les glossines du groupe *palpalis*) et de couleurs sombres (noir), favorisant la pénétration des tsé-tsé par des ouvertures basses ou latérales; les tsé-tsé sont alors guidées vers une partie haute laissant passer la lumière (tissu moustiquaire) et des dispositifs anti-retour jusqu'à une cage située au sommet. Cette cage est obsolète dans le cas des pièges imprégnés d'insecticides (**CHALLIER et LAVEISSIERE 1973 ; CHALLIER *et al.*, 1977 ; LAVEISSIERE et COURET 1980 ; CUISANCE 1989 ; LAVEISSIERE et GREBAUT 1990 ; CUISANCE *et al.*, 2003b ; BOUYER *et al.* 2005a**) (photo 2);



Photo 2 : Pièges bicôniques de Challier et Laveissière

Source : DOMAGNI (2008)

- les écrans, versions simplifiées des pièges constitués d'un simple pan de tissu imprégné d'insecticide et beaucoup moins coûteux (**CUISANCE *et al.*, 2003b ; CENE *et al.*, 2005**) (photo 3 et 4);



Photo 3 : Ecran bleu imprégné d'insecticide



Photo 4 : Ecran piège

Source : Desquesnes

- les animaux eux-mêmes, qui jouent alors le rôle d'appâts vivants, mobiles, odorants et attractifs (**BAUER *et al.*, 1999; CUISANCE *et al.*, 2003b ; BOUYER *et al.*, 2005b ; VALE et TORR 2005**).

II-2) La technique du lâcher de mâles stériles

La technique des insectes stériles (TIS) repose sur la libération de mâles irradiés rendus ainsi stériles. Après une première phase de réduction des densités des populations naturelles par des méthodes « classiques », ces insectes lâchés en surnombre par rapport aux mâles sauvages de l'espèce cible s'accouplent avec les femelles sauvages et entraînent ainsi des accouplements infertiles. Si la population est isolée, ces accouplements infertiles ont des effets très importants sur celle-ci, pouvant l'amener à une extinction. Cette technique de lutte a l'avantage d'être très ciblée, puisque seule l'espèce visée est touchée. Les ennemis naturels des glossines sont ainsi maintenus en place de même que les autres espèces d'insectes vivant dans le même biotope (Odonates, Lépidoptères...). Cette méthode a aussi l'avantage d'être « écologique », car elle permet la réduction d'emploi d'insecticides, de limiter leurs impacts sur l'écosystème et les concentrations de leurs résidus dans les produits alimentaires. Elle a en revanche l'inconvénient d'être très coûteuse et sa rentabilité repose donc sur un effet définitif, possible uniquement dans le cas d'une population isolée (**LEFEVRE., 2003**).

CHAPITRE III : METHODES GENETIQUE DE CARACTERISATION DES POPULATIONS

I-1) Structure de l'ADN

I-1-1) les nucléotides

L'ADN est un polymère contenant des chaînes de monomères appelés nucléotides. Chaque nucléotide contient un sucre, une base azotée et un groupement phosphaté. Le sucre est du 2'-désoxyribose, glucide à cinq carbones notés 1' (prime), 2' etc. Il y a quatre types de bases : l'adénine et la guanine qui ont deux hétérocycles de carbone et d'azote sont des bases puriques ; la thymine et la cytosine qui n'ont qu'un « anneau » sont des bases pyrimidiques. Les bases sont liées au désoxyribose par son carbone 1'. L'association d'un sucre et d'une base azotée est appelée nucléoside. Un nucléoside peut lier un, deux ou trois groupements phosphate au carbone 5' de son sucre, pour former un nucléotide. On rencontre les nucléotides à l'état libre ou polymérisés sous forme d'ADN ou d'ARN.

L'ADN est donc une chaîne résultant de la polymérisation de nucléotides triphosphate porteurs des quatre types de bases. La polymérisation conduit à la perte de deux phosphates et les nucléotides sont liés par le biais du phosphate restant. Plus précisément, le phosphate en 5' d'un nucléotide est attaché par une liaison phosphodiester au groupement hydroxyle en 3' du nucléotide suivant. Le polynucléotide a donc un 5'-phosphate libre à une extrémité (son extrémité 5') et un 3'-OH libre à l'autre extrémité (son extrémité 3'). C'est la séquence des bases (l'ordre de leur enchaînement) qui détermine l'information génétique codée. Elle peut être lue dans le sens 5'-3' ou 3'-5'. Les polynucléotides sont des polymères de très grande taille. On peut avoir, pour un n-mère nucléotide, 4n séquences différentes.

I-1-2) la double hélice

Les molécules d'ADN sont composées de deux brins polynucléotidiques enroulés l'un autour de l'autre pour former une double hélice (**WATSON, 1978**). La part glucide-phosphate de la molécule forme son squelette. Les bases sont tournées vers l'intérieur et sont empilées les unes au-dessus des autres. Les deux chaînes polynucléotidiques tournent dans des directions opposées. La double hélice a un sillon majeur qui intervient dans les interactions avec les protéines. On a pu identifier différents types de structures pour l'ADN, notamment l'ADN Z qui a une hélice sénestre. Des interactions hydrogènes entre bases azotées des deux brins stabilisent la double hélice. L'espace disponible entre les brins contraint les interactions entre bases : une base purique ne peut interagir qu'avec une base pyrimidique. C'est-à-dire qu'A ne peut interagir qu'avec T et G avec C. Ceci est appelé appariement des bases complémentaires. L'association AT et GC constitue la base de la loi de CHARGAFF qui stipule que, dans l'ADN d'une espèce donnée, le pourcentage d'adénine et de thymine est le même, ainsi que celui de la guanine et cytosine. La restriction sur l'appariement des bases signifie que les séquences des bases des deux brins sont liées : la séquence d'un brin détermine et permet de prédire la séquence du brin complémentaire. Cette propriété permet à l'information génétique d'être préservée lors de la réplication de l'ADN et l'expression des gènes. On peut séparer les deux brins formant la double hélice par action thermique ou chimique.

I-2) Fréquences alléliques, loi de Hardy-Weinberg et notion d'hétérozygotie

Le devenir de la variabilité génétique d'une population au cours des générations (la transmission des différents allèles et leurs fréquences) est au premier abord très difficile à prévoir. Outre la difficulté à identifier une population, c'est-à-dire les limites du groupe d'individus sur lequel calculer les fréquences alléliques, de très nombreux facteurs peuvent modifier la fréquence

de ces allèles (mutations, migrations, différence de survie ou fécondité entre individus).

Une première étape pour contourner ces difficultés est d'aborder la transmission des caractères dans un cas simple, appelé population théorique idéale, qui se définit par des caractéristiques dont la principale est la panmixie.

Dans une population théorique idéale, les fréquences des allèles et des génotypes au cours des générations suivent une loi simple appelée loi de Hardy-Weinberg. Cette loi stipule que dans une population théorique idéale, les fréquences alléliques et les fréquences génotypiques restent stables de génération en génération (FALCONER, 1960). Les fréquences génotypiques sont déterminées à partir des fréquences alléliques par une relation simple qui correspond au développement du binôme $(p+q)^2$ dans le cas d'un locus à deux allèles **A** de fréquence **p** et **a** de fréquence **q**.

Le taux d'hétérozygotie d'un locus **k** permet de décrire le polymorphisme de ce locus. Le taux d'hétérozygotie observé (H_0) du locus **k** a été déterminé à partir du rapport entre le nombre total d'animaux typés pour ce locus. Lorsque le nombre d'individus par population est faible, NEI (1978) propose d'utiliser un taux d'hétérozygotie théorique (H_t) appelé taux d'hétérozygotie non biaisé ($H_{n.b.}$). La population est dite en équilibre de Hardy-Weinberg si l'hétérozygotie observée est égale à celle attendue ou théorique.

I-3) Paramètres de caractérisation des populations : F_{st} et F_{is}

Dans la nature, les individus d'une même espèce se dispersent et se répartissent en plusieurs populations. Chacune des populations peut évoluer et acquérir une originalité génétique, caractérisée par des fréquences alléliques plus ou moins différentes de celles des populations voisines. On assiste à une diversification des populations, cependant, le plus souvent, elles continuent à échanger des individus par migration (pas d'isolement total). Ce flux migratoire

tend à homogénéiser les populations (brassage génétique) et à limiter leur diversification.

Soit une espèce fractionnée en plusieurs populations, pouvant échanger des individus migrants. Soit m , le flux génétique d'une population j vers une population i . (taux d'individus se reproduisant, à chaque génération, dans la population i mais qui sont issus de la population j)

Si $m = 0$ alors les populations sont isolées

Si $m = 0,5$: les 2 populations n'en forment qu'une, panmixie

Si les populations sont très grandes, (peu de dérive génétique), toutes convergent vers la même fréquence allélique. (Moyenne des fréquences initiales de chaque population)

Le déficit en hétérozygotes est exprimé par **WRIGHT (1951)** par :

$$F_{ST} = (HT - \overline{HS}) / HT$$

HT : hétérozygotie attendue par individu, en supposant la population globale à l'équilibre de Hardy Weinberg.

HS : hétérozygotie attendue par individu pour une sous population supposée à l'équilibre de Hardy Weinberg.

\overline{HS} la moyenne des HS sur les k sous-populations

Cet indice mesure la réduction relative des hétérozygotes liée aux différences alléliques entre populations. C'est un indice de diversification des populations.

Si les populations sont identiques, $F_{st} = 0$.

Le ***FST*** de **Wright (1951)** (S pour Sous-population comparé au Total), encore appelé « indice de fixation » ou « mesure de l'effet Wahlund » doit être utilisé pour étudier des sous populations. Si on applique ce principe à une population unique, la baisse d'hétérozygotes peut être interprétée comme consanguinité, alors que cela est dû aux différences de fréquences alléliques. Le F_{st} est donc un indice de déviation par rapport aux proportions de Hardy Weinberg.

Sans la connaissance exacte de la structure de la population (souvent fractionnée en sous populations), il est impossible d'attribuer ce phénomène à un effet de consanguinité ou d'isolement génétique.

Le $FIS = \overline{(HS-HI)}/HS$, avec :

HI : hétérozygotie observée en moyenne par individu sur l'ensemble des sous populations.

Cet indice quant à lui, mesure la réduction éventuelle d'hétérozygotie des individus à l'intérieur de leurs sous populations.

Si les populations sont à l'équilibre de Hardy Weinberg, alors $Fis = 0$.

Si Fis est négatif les sous populations présentent un excès d'hétérozygotie.

I-4) Les marqueurs génétiques et leurs utilisations

Les techniques issues de la biologie moléculaire permettent de rechercher des variations dans les séquences nucléotidiques de l'ADN et sont de plus en plus utilisées pour étudier le fonctionnement génétique des populations. Cette variabilité peut être recherchée dans des régions codantes de l'ADN mais de très nombreuses techniques permettent d'étudier le polymorphisme des régions non codantes qui composent la grande majorité des génomes. Cette variabilité, qui n'est généralement pas exprimée au niveau phénotypique, est utilisée pour définir des marqueurs permettant soit de caractériser des individus = empreinte génétique (ou finger print), soit de caractériser des populations, soit de cartographier des gènes.

I-4-1) Polymorphisme RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et PCR-RFPL

Après extraction, l'ADN est soumis à une (ou des) enzyme(s) de restriction qui coupe(nt) la molécule à des endroits précis, définis par une séquence de bases, appelés sites de restriction. Toute modification par mutation dans la

séquence du site de restriction empêche l'action de l'enzyme. Cette non-coupage de l'ADN est détectée par une variation du nombre et de la longueur des fragments d'ADN (fragments de restriction) obtenus après digestion enzymatique puis séparation par électrophorèse et visualisation par hybridation avec une sonde radioactive ou fluorescente.

Ce type de marqueur est codominant si le nombre d'enzymes utilisées est faible et s'il y a peu de sites d'hybridation de la sonde dans le génome. En faisant agir simultanément plusieurs enzymes de restriction, on étudie le polymorphisme à autant de sites particuliers qui se répètent tout au long de la molécule d'ADN.

L'utilisation de la PCR permet d'amplifier une région définie du génome puis d'appliquer la technique RFLP au produit PCR. Cette méthode appelée **PCR-RFLP** permet d'obtenir facilement des marqueurs codominants et évite l'étape d'hybridation et l'utilisation de sonde radioactive. Le produit PCR digéré par une (ou des) enzyme(s) de restriction est simplement mis à migrer dans un gel d'agarose et le polymorphisme de la position et du nombre de bande est visualisé par une réaction colorée (Bromure d'éthydiuim).

I-4-2) RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA)

Cette technique consiste à réaliser une amplification PCR avec des amorces d'environ 10 pb définies de façon aléatoire. Si les 2 sites d'hybridation sont suffisamment proches, l'amplification PCR est possible. Une variabilité dans la séquence des sites entre individus sera détectée par un polymorphisme du nombre et de la longueur des fragments d'ADN amplifiés. Cette technique a l'avantage d'être rapide avec peu de mise au point et révèle un polymorphisme important, mais ce marqueur est dominant et les conditions de PCR sont très sensibles.

Une variante de la technique RAPD est d'utiliser des microsatellites comme amorces ce qui permet d'amplifier des régions comprises entre deux microsatellites (ISSR = Internal simple sequence repeat).

I-4-3) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Cette technique est une combinaison des RFLP et des RAPD. L'ADN est dans un premier temps digéré par des enzymes de restriction souvent (EcoR1 et Mse1), puis des adaptateurs vont venir se fixer aux deux bouts des produits de digestion. Une amplification PCR est ensuite effectuée à l'aide d'amorces qui s'hybrident avec les adaptateurs mais comportent en plus quelques bases choisies au hasard afin d'amplifier de façon sélective uniquement certains fragments. Une seconde PCR peut ensuite être effectuée pour réaliser une amplification plus sélective. Cette technique est très efficace pour révéler rapidement et facilement du polymorphisme.

I-4-4) Loci mitochondriaux et les isoenzymes

Une variabilité importante a été détectée sur des loci mitochondriaux d'espèces de glossines du groupe *morsitans* (**KRAFSUR, 2003**), cette variabilité étant beaucoup moins importante dans le groupe *palpalis* (**CUISANCE et al., 2003b**), cette différence étant attribuée à des tailles de populations efficaces plus petites pour *G. palpalis*. Les variations présentes sur l'ADN mitochondrial sont transmises par la mère, et, à quelques exceptions près, ne recombinent pas. Elles seront utilisées de préférence pour étudier les lignées maternelles et les goulots d'étranglement des populations. Très utiles en phylogénie, ces marqueurs semblent ne pas être les mieux adaptés à nos objectifs (écologie des populations) (**DE MEEÛS et al., 2006**).

Les isoenzymes ont été étudiées chez des représentants des trois sous-genres de tsétsé. Ces marqueurs génomiques codominants peuvent être utilisés dans le cadre de la génétique des populations de glossines. La diversité en

allozymes ou hétérozygotie, est la probabilité moyenne, sur l'ensemble des loci, qu'un insecte choisi aléatoirement soit hétérozygote. Les capacités de dispersion des glossines étant très importantes, il est surprenant de constater que la diversité en allozymes a révélé une structuration très importante et un flux de gènes correspondant faible entre onze populations de *G. pallidipes* provenant du Kenya, de Zambie, du Zimbabwe et du Mozambique (**KRAFSUR, 2002 ; GOODING et KRAFSUR, 2005**). L'équilibre de Hardy-Weinberg était respecté à l'intérieur des populations, démontrant une probabilité d'accouplement uniforme entre individus d'une même sous-population. L'étude de loci mitochondriaux entre 18 populations provenant d'Ethiopie, du Kenya, de Zambie, du Zimbabwe et du Mozambique a révélé des niveaux de différenciation encore plus importants (**KRAFSUR et ENDSLEY, 2002 ; KRAFSUR, 2003**). Des différences particulièrement importantes ont été révélées entre les populations Est et Sud-africaines. Les goulots d'étranglement détectés dans certaines populations de *G. m. centralis* et *G. pallidipes*, localisées dans la partie sud de la zone d'étude, ont été mis en relation avec la chute importante des densités de glossines qui a suivie l'épizootie de peste qui a commencé en 1887 et entraîné une réduction importante des densités d'hôtes vertébrés. En Gambie, *G. m. submorsitans* montre une diversité beaucoup moins importante au niveau des loci mitochondriaux qu'en Ethiopie.

I-4-5) Séquences répétées en tandem ou minisatellites (VNTR) et les microsatellites

La génétique des populations est ici abordée comme un outil indirect d'étude de l'écologie des populations de glossines (structure, dispersion, taille des populations) (**DE MEEÛS et al., 2006**).

Les marqueurs ciblés dans le cadre de la présente étude sont des microsatellites, séquences uniformément réparties sur l'ensemble du génome

nucléaire, généralement neutres à la sélection et qui évoluent rapidement, permettant d'étudier des différenciations intra spécifiques. Les séquences microsatellites sont de courtes séquences de 2 à 6 nucléotides répétées en tandem : les allèles, codominants, transmis selon les lois mendéliennes, ont un nombre de répétitions et donc une taille variable, et peuvent être différenciés après migration sur gels d'agarose ou d'acrylamide. De nombreux microsatellites polymorphes ont récemment été décrits chez différentes espèces de glossines (**SOLANO et al., 1997 ; SOLANO 1998 ; SOLANO et al. 2000 ; LUNA et al., 2001; KRAFSUR et ENDSLEY, 2002 ; KRAFSUR, 2003**). L'étude des loci microsatellites, plus informatifs que les isoenzymes, a montré des différences importantes entre des populations de *G. p. gambiensis* provenant du Sénégal et du Burkina Faso (approximativement séparées par 2000 km) (**SOLANO, 1998**). L'analyse morphométrique de ces populations, à l'aide du logiciel Fly Picture Measurements (CIRAD/IRD) a quant à elle démontré des différences de taille significatives. Dans la zone agro-pastorale de Sidéradougou, au Burkina Faso, qui fait partie du bassin versant du Mouhoun, une structuration importante a par ailleurs été observée entre populations très proches (<40 km) : les sous-populations étudiées ont en outre montré des préférences trophiques variables associées à la présence d'espèces de trypanosomes différentes. L'absence d'évaluation quantitative de la disponibilité de certaines espèces hôtes (en particulier reptiles) dans les différents sites ne permettait cependant pas d'établir un lien de causalité entre ces différences et la structuration observée. Chez *G. p. palpalis*, dans un des foyers les plus actifs de trypanosomose humaine de Côte d'Ivoire, une structuration en sous-populations différentes a également été observée à une échelle locale (**RAVEL et al., 2006a**). Dans ces populations, un déficit en hétérozygote intra populationnel (effet Wahlund) a également été observé et relié à la capture au même endroit (le village, ou site de chasse) d'individus provenant de différentes populations source. Une autre hypothèse était l'existence potentielle d'espèces cryptiques

chez les tsé-tsé, hypothèse renforcée par l'existence d'hybrides stériles lors de croisements de différentes souches de *G. palpalis* (**GOODING et al., 2004**). Enfin, en Guinée, une étude récente a permis de montrer qu'une population de *G. palpalis gambiensis* présente sur les îles de Loos, à 5 km au large de Conakry, était très différente de celles des zones de mangroves continentales situées à 30 km plus au Nord (**CAMARA et al., 2006**), laissant supposer l'isolement de cette population insulaire et conduisant à proposer son élimination. Des résultats de morphométrie géométrique ont confirmé cette hypothèse, et laissent penser que cet outil pourrait être utilisé en complément de la génétique des populations.

DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTATION

DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTATION

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I) SITES DE TRAVAIL ET ECHANTILLONNAGE

I-1) Sites de travail et période

Dans notre étude effectuée d'octobre 2007 à juillet 2008, cinq populations de *G. palpalis gambiensis Vanderplanck*, ont été récoltées, dont quatre sur le fleuve Mouhoun dans les villages suivants : Samadeni, Zamakologo, Minsin et Banzon. La dernière population a été récoltée sur un affluent du fleuve Niger et cela dans le village de Bleni au Burkina Faso (**figure 7**). Le bassin du Niger draine le nord-est et l'est du pays. Il a un bassin versant de 72 000 km².

Le bassin du Mouhoun est situé dans le triangle cotonnier Ouest-Africain (Bobo Dioulasso). Cette zone a été définie comme étant prioritaire pour la lutte contre les trypanosomoses animales africaines (**annexe 2**). Les zones écoclimatiques de la région correspondent à des zones soudaniennes et soudano guinéennes, avec une pluviométrie annuelle comprise entre 750 et 1050 mm de pluie. Dans cette zone cotonnière, les nombreux changements environnementaux sont dus à des changements climatiques ou à des modifications anthropiques, ce qui modifie l'environnement même des glossines riveraines (**BOUYER et al., 2007**). Le paysage rencontré le long des cours d'eau est essentiellement de type « cordon ripicole » étroit, bordé de cultures ou de savanes. Samandéni, Zamakologo, Minsin, Banzon et Bléni sont respectivement situés à environ 45, 77, 105, 70 et 120 km de Bobo Dioulasso.

En général, les galeries sont fermées au niveau du réseau hydrographique, structures favorables aux glossines riveraines. A Samandéni (galerie sémi-conservée), la rive droite du fleuve (Mouhoun) est occupée par les cultures vivrières (essentiellement maïs et sorgho) et cotonnières; la rive gauche par une couverture herbacée. Cependant, le point 5 de piégeage est complètement dégradé par l'action des animaux d'élevage qui viennent s'y abreuver et des hommes notamment les femmes qui y accomplissent leurs tâches ménagères

telles que la lessive et la vaisselle. Quant à Zamakologo et Bléni, la galerie est également sémi-conservée avec des champs de vivres et cotons contigus à la galerie. Banzon est particulièrement marqué par la présence abondante de rizière et Minsin caractérisé par sa galerie conservée.

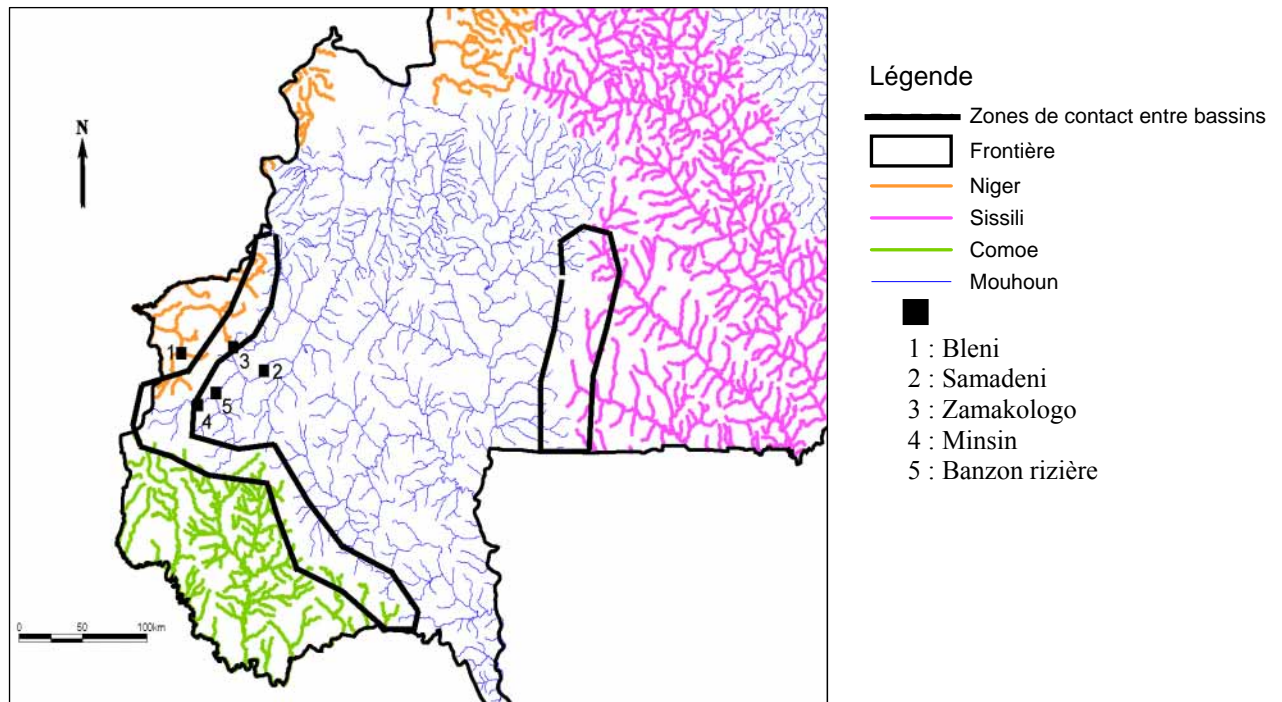


Figure 7 : présentation de la zone d'étude.

I-2) Echantillonnage

Les glossines ont été capturées lors de nos missions AIEA grâce à des pièges biconiques (Challier-Laveissière) posées au bord des fleuves.

En général, pour l'étude des populations de glossines il est recommandé d'utiliser trente (30) mouches par site pour la biologie moléculaire. Pour la morphométrie, le nombre d'ailes recommandé est le double du nombre de points de Landmarks. En effet, le nombre de landmarks est de onze (11).

Tout comme pour la génétique des populations, cinq populations de glossines ont été traitées. Soit un total de 51 individus mâles et 87 femelles. Pour

les mâles, 50 individus avaient les deux ailes exploitables, alors que chez les femelles, 85 présentaient deux ailes exploitables et 2 n'en présentaient qu'une seule de qualité suffisante. Le nombre d'ailes analysées diffère en fonction des sites de capture, ainsi :

Il est important de signaler que le nombre de mâles (12) et le nombre de femelles (14) utilisés respectivement pour les sites de Minsin et Banzon rizière sont insuffisants pour mener une analyse rationnelle (**tableau I**).

Dans les études morphométriques, les sexes ne sont pas comparés entre eux, mais les populations comparées sexe par sexe. Habituellement, on observe une grande différence entre eux (**CAMARA et al., 2006**), ce qui interdit une comparaison des populations en associant les données morphométriques issues des deux sexes.

Les effectifs consignés dans le tableau suivant :

Tableau I : Nombre d'individus utilisé par population

populations	Bleni (1)	Samadeni (2)	Zamakologo (3)	Minsin (4)	Samadeni (5)
Nombre de mouches	30	34	35	27	30
Nombre d'ailes des mâles	20	24	23	22	12
Nombre d'ailes des femelles	32	47	47	14	32

II) MATERIEL ET METHODES

II-1) Matériel

II-1-1) Analyses moléculaires

- **L'insecte**

Il s'agit de *Glossina palpalis gambiensis vanderplanck* capturée sur les différents sites d'étude.

- **Extraction d'ADN, PCR et Migration**

En dehors de la verrerie classique composée de béchers, de fioles jaugées, de burette, de pipettes, de micropipettes, de portoirs de tubes et microtubes, nous avons utilisé les appareils et les réactifs suivants :

- Tubes eppendorf
- Pipettes eppendorf
- Cônes
- Pince à dissection
- Bain-marie
- Vortex
- Centrifugeuses
- Séquenceur 4300 DNA Analysis system de LI-COR (lincoln, NE)
- Balances
- Plaques chauffantes
- Eprouvettes
- Béchers
- Thermocycleurs
- Barques en plastique
- Hotte
- Chelex 5%
- Tampon 10X
- dNTP (désoxyribonucléotide Triphosphates)

- Eau stérile
- Taq
- gel d'Agarose
- gel d'Acrylamide
- BET

II-1-2) Analyses morphométriques

- **L'aile**

Les ailes de glossines utilisées sont celles des mouches récoltées sur les différents sites d'étude.

- **Matériel de photographie**

- Ordinateur
- Logiciel MOTIC 2000
- Loupe binoculaire à caméra numérique
- Une trousse à dissection
- Lames et lamelles
- Baume

II-2) Méthodes

II-2-1) Techniques moléculaires

II-2-1-1) Les microsatellites utilisés

Lors de la dissection des mouches récoltées sur le terrain, 2 paires de pattes sont prélevées, placées dans des petits tubes Eppendorf secs et conservées au froid. Les analyses génétiques de ces paires de pattes sont réalisées au CIRDES, grâce à l'installation récente d'un séquenceur Licor, contrairement aux autres années où elles l'étaient à Montpellier au CIRAD. Neuf (9) microsatellites ont été utilisés pour ces analyses génétiques : B104; pGp13, (LUNA, BONIZZONI et al., 2001), 55.3, C102, GpCAG133 (BAKER et KRAFSUR 2001), pGp24, pGp1, A10, B110. De précédentes études de

pedigree ont montré que 3 de ces microsatellites sont présents sur le chromosome sexuel X : B104, pGp13 et 55.3 (**BOUYER 2006 ; CAMARA et al., 2006**). Les microsatellites C102 et GpCAG133 sont des répétitions de trinuécléotides. Tous les autres sont des répétitions de dinuécléotides.

II-2-1-2) Extraction de l'ADN

Pour l'**extraction de l'ADN**, les paires de pattes ont été placées dans 200 µl d'une solution de Chelex ® à 5% (Walsh, Metzger et al. 1991; Solano, De La Rocque et al. 2000). Elles sont ensuite broyées manuellement à l'aide de pistons adaptés (changer de piston pour chaque échantillon). Les tubes sont mis à incuber pendant une heure à la température de 56°C. Puis, l'ADN est dénaturé à 94°C pendant 30 minutes, centrifugé pendant 3mn à 12000 tours/min. Les tubes sont conservés à 4°C si utilisation rapide (PCR froide) ou à -20°C. Enfin, ils sont centrifugés avant chaque utilisation.

II-2-1-3) La PCR

Les cycles de **PCR** sont effectués dans un thermocycleur (MJ Research, Cambridge UK) dans un volume final de 20 µL, avec 10 µL de solution d'ADN extrait (diluée 5 fois) et 10 µL de premix. Les quatre vingt puits du milieu de la plaque PCR Licor (colonne 2 à 11) sont donc remplis. Il est important de signaler que le dernier puits qui est considéré comme témoin contient 10 µL d'eau au lieu de solution d'ADN (**annexe 3**). La plaque est fermée avec un couvercle adhésif et la PCR est lancée. Chaque plaque permet la réalisation simultanée de deux (2) PCR, une en 700 et l'autre en 800.

II-2-1-4) Dépôt sur LI-COR (migration)

Dans chaque plaque de réarrangement, une PCR réalisée en 700 est mélangée avec une PCR réalisée en 800. Un plan de plaque indiquant les

marqueurs de taille à utiliser doit être réalisé. Les plaques PCR doivent être centrifugées (quick-run) juste avant de prélever les produits PCR. Après avoir introduit 6 µl d'eau dans les 96 puits, 2 µl de PCR 700 et de 800 sont introduit dans les 80 puits du milieu. Dans les 16 puits des marqueurs de taille (colonne 1 et colonne 12), on introduit 0,5 µl d'un marqueur de taille en 700 et 0,5 µl d'un autre marqueur de taille en 800 puis cette même action est répétée pour le marqueur de taille en 800. Avant de dénaturer pour passer au Licor, rajouté 14 µl de (bleu formamide+desmiling).

Les bandes d'allèles ont été mises en évidence avec un séquenceur 4300 DNA Analysis System de LI-COR (Lincoln, NE). Les gels utilisés étaient des gels de polyacrylamide (6,5%) réutilisables trois fois, dans lesquels on peut faire 96 puits. Cette méthode permet un multiplexage avec l'usage de deux types de dyes (IRDye™) réagissant dans l'infrarouge, aux longueurs d'ondes de 700 et 800 nm. Deux canaux de lecture utilisant deux lasers différents permettent d'éviter les erreurs de lecture due à la fluorescence. Pour déterminer la taille des allèles, pas moins de 30 marqueurs de tailles ont été utilisés. Ces marqueurs de taille ont été générés par clonage d'allèles de tsé-tsé dans le pGEM-T Easy Vector (Promega Corporation, Madison, WI, USA). Trois clones de chaque allèles ont été séquencés en utilisant le primer T7 et le « Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit » (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Les séquences ont été analysées sur un séquenceur automatique PE Applied Biosystems 310 (PE Applied Biosystems) qui permet de déterminer la taille exacte de chaque allèle produit.

II-2-2) Techniques morphométriques

Les ailes prélevées sont montées par paires entre lame et lamelle grâce à du baume du Canada. Les ailes gauche et droite de la mouche sont placées respectivement à gauche et à droite de la lame. Trois (3) paires d'ailes sont

fixées par lame et soigneusement identifiées (numéro de la mouche, site et date de capture). Au laboratoire, à l'aide d'une caméra numérique (MoticR) et d'un logiciel spécifique (COOw), chaque aile a été photographiée et 11 points remarquables (landmarks) ont été placés (**figure 8**). Ces points sont situés à des intersections de nervures sur les ailes. Un ordre est établi et est scrupuleusement respecté pour les placer.

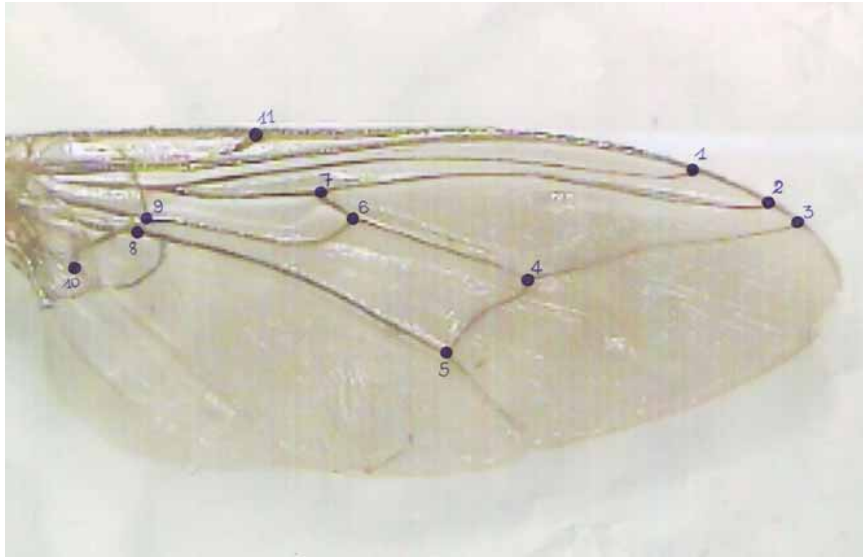


Figure 8: Points remarquables placés sur les nervures des ailes de glossines étudiées.

Remarque : la « cellule en H » est délimitée par les points 5, 4, 6, 9 et 8.

Les points ainsi obtenus pour chaque aile de mouches sont analysés selon une méthode dite « Analyses Procrustes Généralisées » (APG) (ROHLF, 1990 ; ROHLF, 1996), qui permet suite à des transformations géométriques (translation, rotation, mise à l'échelle par la taille centroïde puis projection) (**figure 9**) de s'affranchir de l'effet « taille » et des différences de positions des ailes sur la lame entre individus.

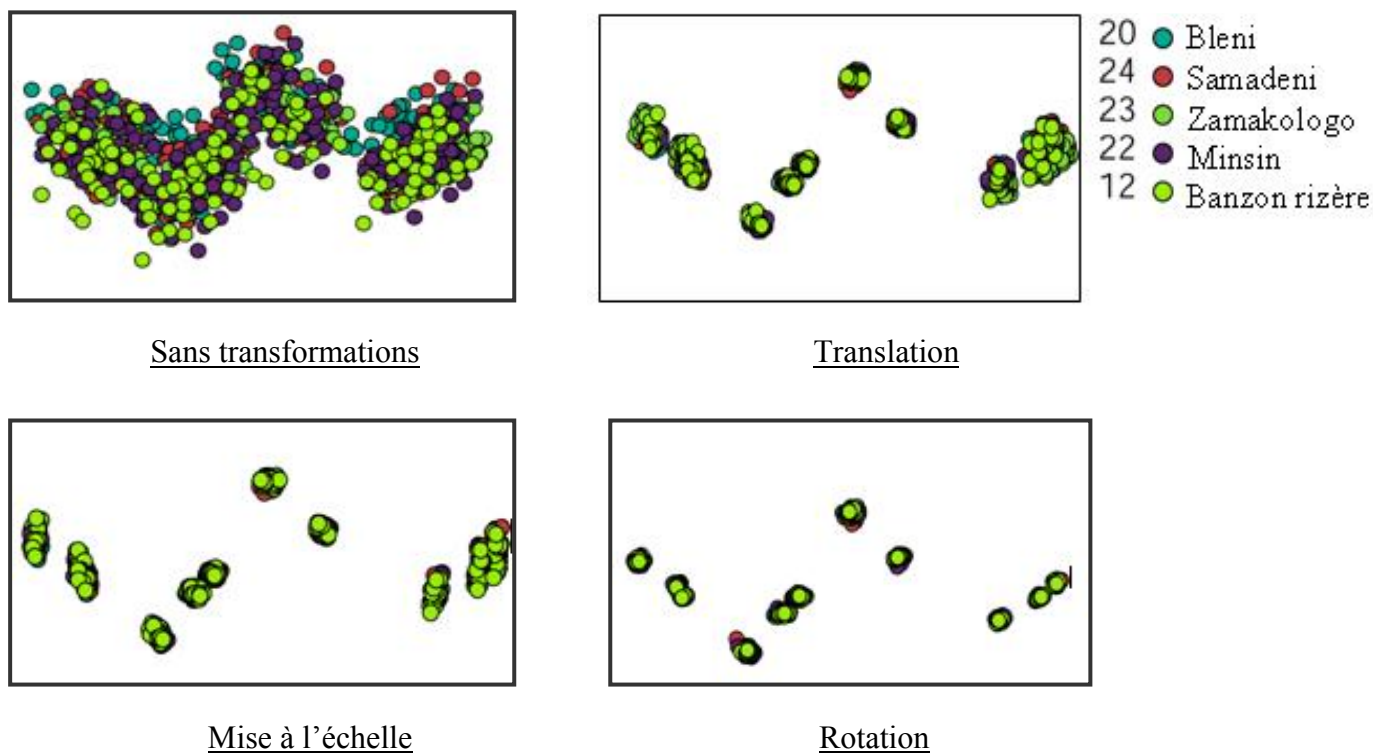


Figure 9 : différentes étapes de l'analyse morphométrique

Les nouvelles coordonnées ainsi obtenues sont appelées « partial wraps ». La taille centroïde (**BOOKSTEIN 1991**) et sa variance sont calculées à partir de variables de forme représentées par les « partial warps » et sont utilisées pour les comparaisons géographiques et les comparaisons morphométriques.

Les distances de Mahalanobis ont été calculées à partir des partial-warps et leur signification statistique a été évaluée par 5000 permutations des individus parmi les groupes utilisés lors des comparaisons (deux ou trois, selon la nature des comparaisons). Ces logiciels de morphométrie géométrique ont été créés par J.P. Dujardin et sont disponibles gratuitement sur le site internet suivant :

<http://www.mpl.ird.fr/morphometrics/>.

III) ANALYSES STATISTIQUES

III-1) La morphométrie

L'analyse morphométrique de ces populations s'est faite à l'aide du logiciel Fly Picture Measurements.

III-2) La génétique

A l'aide des logiciels TextPad 3.2 et FSTAT v.2.9.3 nous avons effectué le traitement de nos données à savoir : détermination des fréquences alléliques, de l'hétérozygotie et le calcul des F-Statistiques : les Fis et Fst.

III-2-1) Estimation des fréquences alléliques

Pour un locus donné, une population est complètement décrite si l'on connaît la fréquence de chacune des catégories génétiques. Dans le cas d'un système diallélique A et a, la structure d'une population d'effectif N est complètement connue si l'on connaît les effectifs N_{AA} de AA, N_{Aa} de Aa et N_{aa} avec $N = N_{AA} + N_{Aa} + N_{aa}$ à partir desquels on calcule les fréquences relatives des trois génotypes.

A partir des fréquences génotypiques, il est possible de calculer les fréquences alléliques dans la population, c'est-à-dire les fréquences des différents états alléliques du locus considéré. Dans le cas d'un gène autosomal à deux allèles A et a, la fréquence de l'allèle A est le rapport du nombre d'allèles A au nombre total d'allèles à ce locus, soit 2N pour une population de N individus diploïdes :

- Les N_{AA} individus AA sont porteurs de deux allèles A
- Les N_{Aa} individus Aa d'un allèle A et d'un allèle a
- Les N_{aa} individus aa de deux allèles a.

Le nombre d'allèles A dans la population est donc $2N_{AA} + N_{Aa}$.

Les fréquences p et q des allèles A et a sont alors les suivantes :

$$+ f(A) = p = (2N_{AA} + N_{Aa})/2N$$

$$+ f(a) = q = (2N_{aa} + N_{Aa})/2N \text{ avec } p+q = 1$$

Autrement dit si D et R sont les fréquences respectives des homozygotes AA et aa, H la fréquence des hétérozygotes Aa, les fréquences alléliques peuvent aussi être calculées à partir des fréquences génotypiques :

$$+ f(A) = p = D + H/2$$

$$+ f(a) = q = R + H/2$$

III-2-2) Taux d'hétérozygotie

Le taux d'hétérozygotie d'un locus k permet de décrire le polymorphisme de ce locus. Le taux d'hétérozygotie observé (H_0) du locus k a été déterminé à partir du rapport entre le nombre total d'animaux typés pour ce locus. Lorsque le nombre d'individus par population est faible, **NEI (1978)** propose d'utiliser un taux d'hétérozygotie théorique (H_t) appelé taux d'hétérozygotie non biaisé ($H_{n.b.}$). La population est dite en équilibre de Hardy-Weinberg si l'hétérozygotie observée est égale à celle attendue ou théorique.

✓ Taux d'hétérozygotie observé H_0

C'est la moyenne des fréquences des hétérozygotes observées à chacun des loci étudiés. $H_0 = 1/N \sum H_i$

Le taux d'hétérozygotie fournit une bonne estimation de la variabilité génétique de la population, à condition toutefois que les individus de cette population se reproduisent au hasard. Les modes de reproduction n'étant pas toujours connus, on calcule également un autre paramètre qui est l'hétérozygotie attendue ou théorique (H_t).

✓ Taux d'hétérozygotie attendue ou théorique (H_t)

C'est une estimation de la fréquence des hétérozygotes si les allèles sont associés au hasard pour former les génotypes.

Pour un locus A à k allèles A_1, A_2, \dots, A_k de fréquences f_1, f_2, \dots, f_k ,

L'hétérozygotie attendue H_e est la suivante :

$$H_e = 1 - (f_1^2 + f_2^2 + \dots + f_k^2) = 1 - \sum f_i^2$$

L'hétérozygotie théorique globale est la moyenne des hétérozygoties attendues à chacun des loci étudiés :

$$H_t = 1/N \sum H_{ei}$$

N étant le nombre total de loci étudiés qu'ils soient monomorphes ou polymorphes

H_{ei} est l'hétérozygotie théorique au locus i

Il est alors possible de comparer la variabilité génétique des populations qui présentent des modes de reproductions différents.

III-2-3) Les F-Statistiques

Pour évaluer l'impact possible des échanges génétiques sur les populations étudiées, la structure des populations a été explorée par une série de tests statistiques complémentaires, avec à chaque fois comme hypothèse nulle l'équilibre de Hardy-Weinberg, ou une situation de libre échange génétique (panmixie) avec un risque d'erreur de première espèce de 5%. A l'intérieur de chaque population, les tests effectués permettent de mesurer l'hétérozygotie observée par rapport à celle attendue en cas d'équilibre de Hardy-Weinberg. L'écart entre ces deux valeurs donne le *FIS* (I pour Individu, S pour Sous-population) de **WRIGHT (1951)** et son estimateur non biaisé *f* (**WEIR et COCKERHAM, 1984**) : il mesure l'écart entre le nombre d'hétérozygotes observés et attendus au sein d'une population donnée, et sa valeur varie de -1 (aucun homozygote) à +1 (aucun hétérozygote), et est égal à 0 en cas de panmixie parfaite. Entre les populations, les analyses consistent essentiellement en la mesure des différences de fréquences alléliques ou de leur variance entre les populations. On utilise le *FST* de **WRIGHT (1951)** (S pour Sous-population comparé au Total), mesuré par son estimateur non biaisé Θ (**WEIR et COCKERHAM, 1984**), qui est la composante de la variance entre les populations, et qui varie de 0 (pas de différenciation) à +1. Ce paramètre est encore appelé « indice de fixation » ou « mesure de l'effet Wahlund »

(**GOUDET, 1995**), il mesure la différenciation génétique entre les populations, et exprime ainsi les différences de fréquences alléliques entre les sous-populations. Sa valeur est toujours positive.

On teste si ce paramètre donne des valeurs significatives par permutation des génotypes entre les populations.

$$F_{ST} = (HT - \overline{HS}) / HT$$

$$F_{IS} = (\overline{HS} - HI) / \overline{HS}$$

HI : Hétérozygotie observée en moyenne par individu, sur l'ensemble des sous-populations.

HS : Hétérozygotie attendue par individu pour une sous-population, en la supposant à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

\overline{HS} la moyenne des HS sur les k sous-populations

HT : Hétérozygotie attendue par individu, en supposant la population globale à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

CHAPITRE II : RESULTATS

I) FREQUENCES ALLELIQUES ET HETEROZYGOTIES

I-1) Fréquences alléliques

Les figures 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 et 18 représentent la composition allélique et la distribution des fréquences observées pour chaque locus polymorphe dans les populations de glossines étudiées. La taille des allèles est exprimée en paires de bases.

L'analyse des fréquences conduit aux observations suivantes :

- Au sein d'un même marqueur, les fréquences des différents allèles sont très variables d'une population à l'autre. C'est le cas de l'allèle 161 du marqueur B110 fortement représenté (66%) alors que les allèles 159, 207, 155 etc sont faiblement représentés voire même absents (**figure 18**).
- Certains allèles peuvent être présents dans une population pour un marqueur donné et être absents dans cette même population pour un autre marqueur. L'exemple est donné pour l'allèle 188 rencontré dans la population 5 (Banzon) pour le marqueur A10 mais absent dans cette population pour le marqueur pGp13 (**figure 10 et 11**).
- Les allèles communs à certains marqueurs se manifestent très différemment au sein des populations. C'est le cas une fois encore de l'allèle 188 pour le marqueur A10 (**figure 11**) qui est présent dans toutes les populations à des fréquences allant de 2% (population de Samadeni) à 23% (population de Bleni), tandis que cet allèle varie de 0% (population de Minsin) à 27% (population de Zamakologo) pour le marqueur pGp13 (**figure 11**).

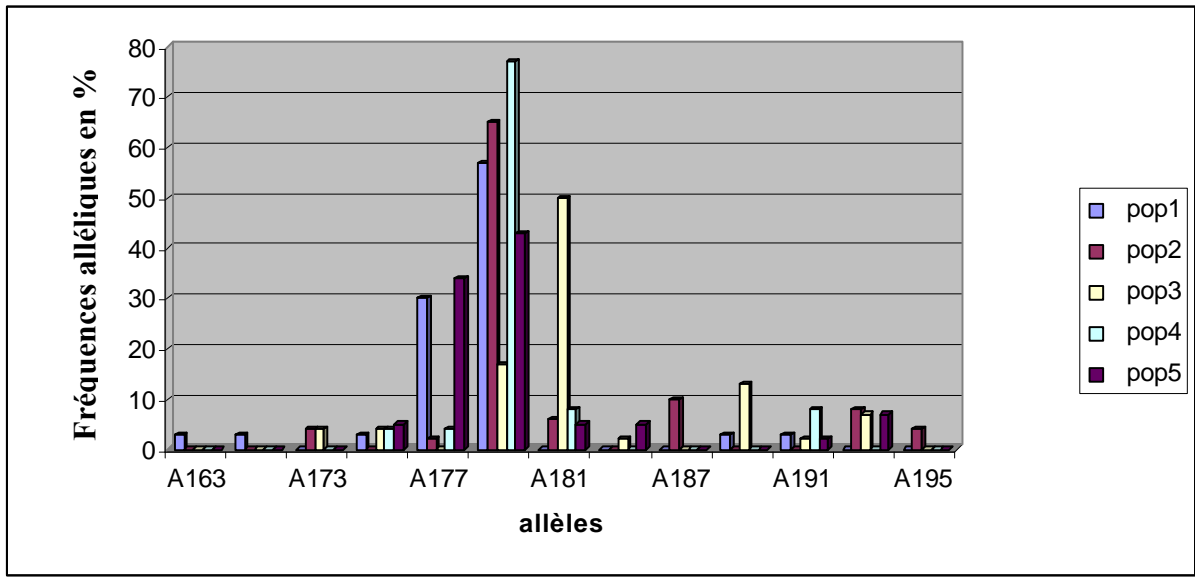


Figure 10 : Fréquences alléliques par population du marqueur 55.3

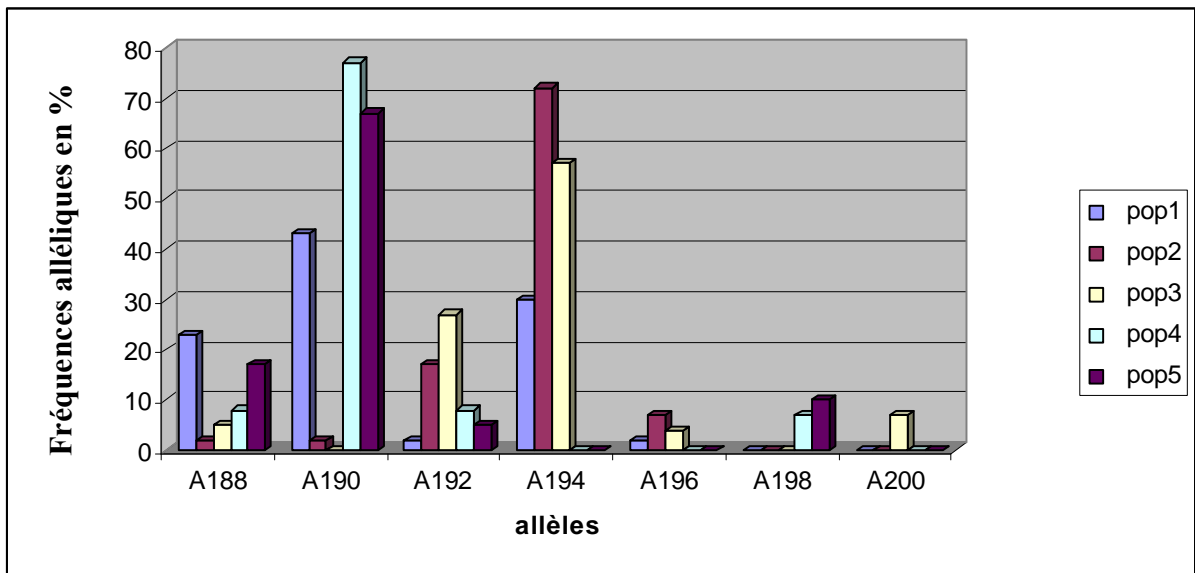


Figure 11 : Fréquences alléliques par population du marqueur A10

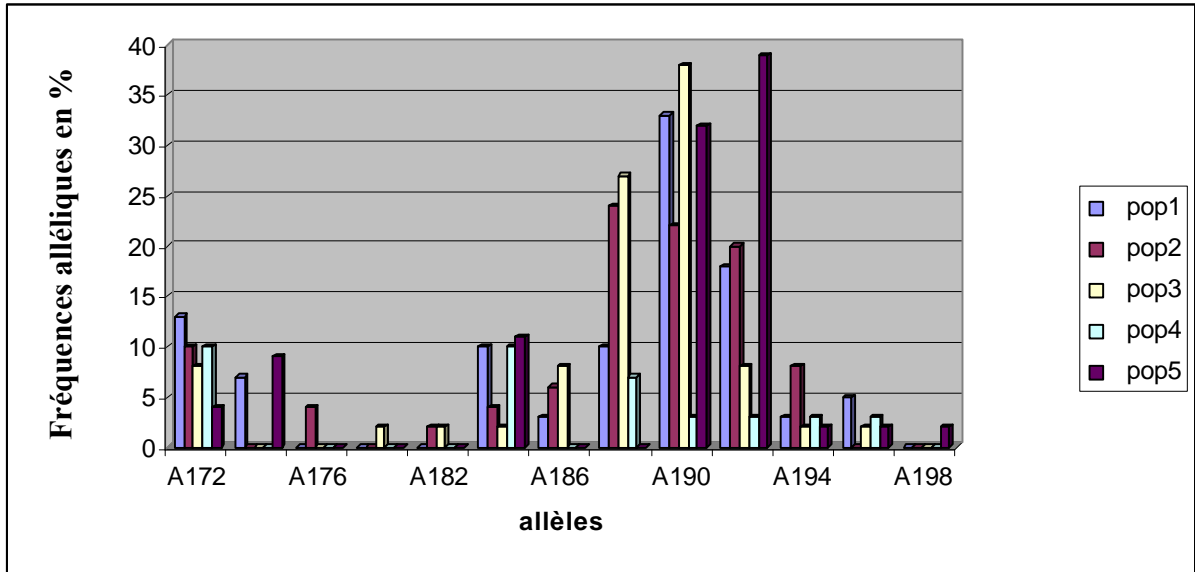


Figure 12 : Fréquences alléliques par population du marqueur pGp13

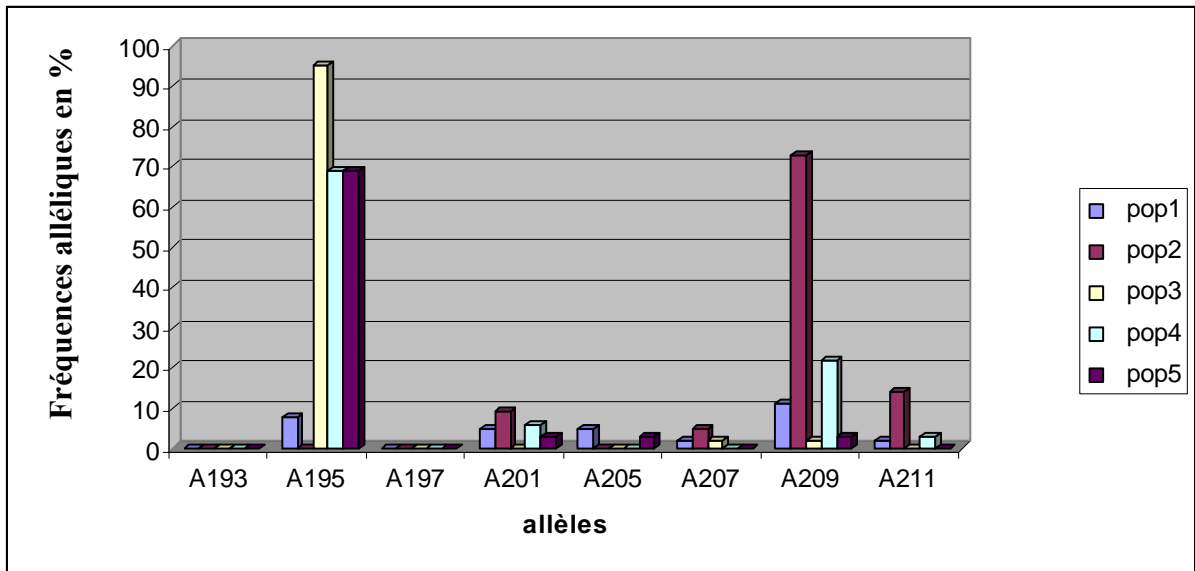


Figure 13 : Fréquences alléliques par population du marqueur pGp24

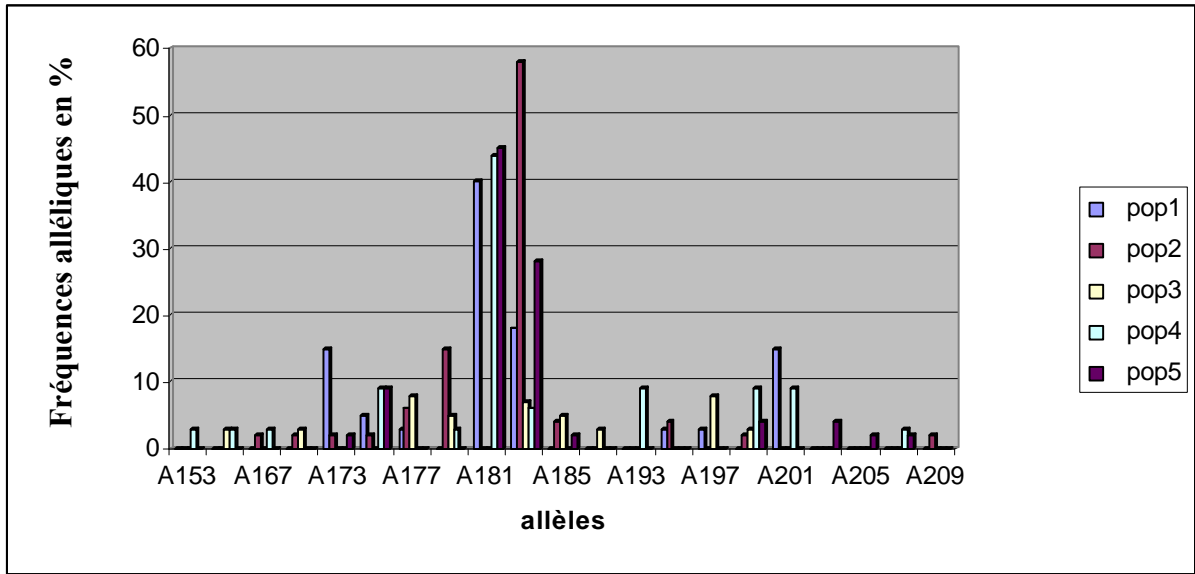


Figure 14 : Fréquences alléliques par population du marqueur B104

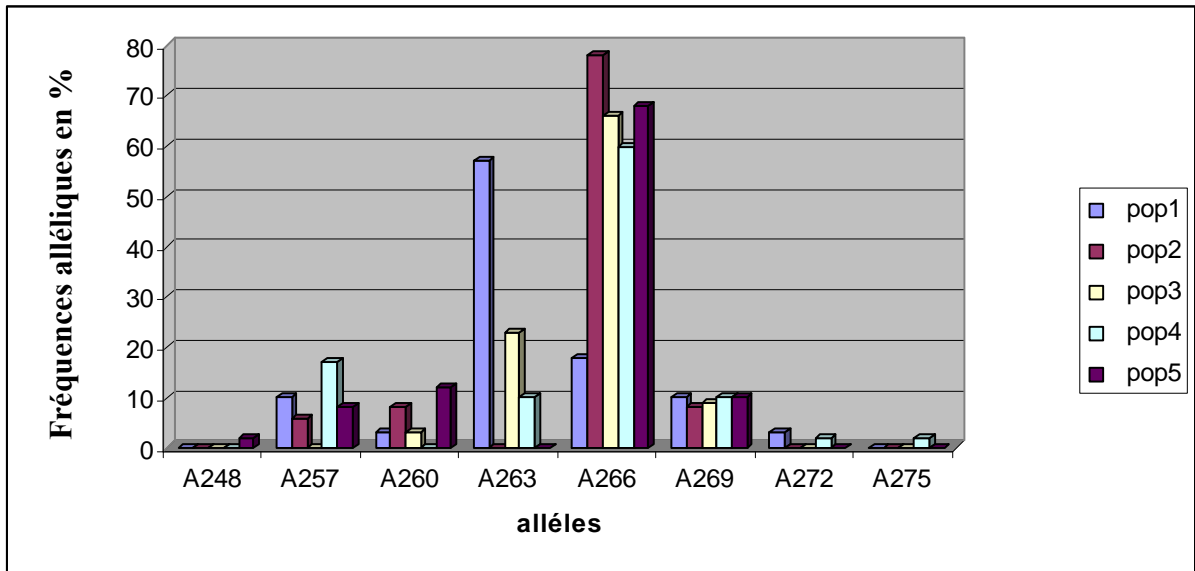


Figure 15 : Fréquences alléliques par population du marqueur C102

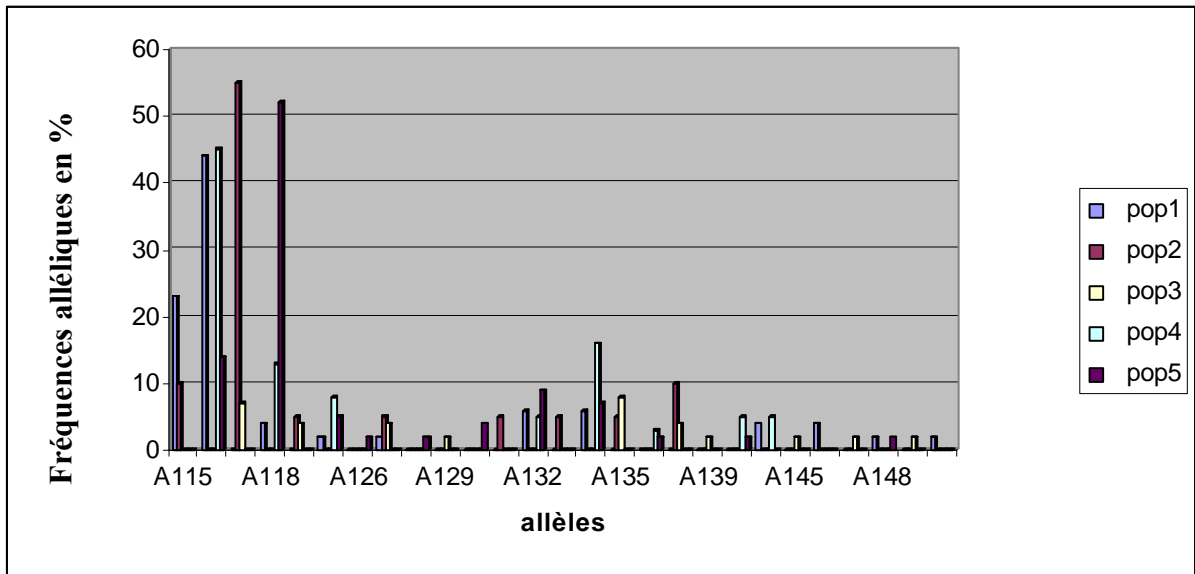


Figure 16 : Fréquences alléliques par population du marqueur pGp1

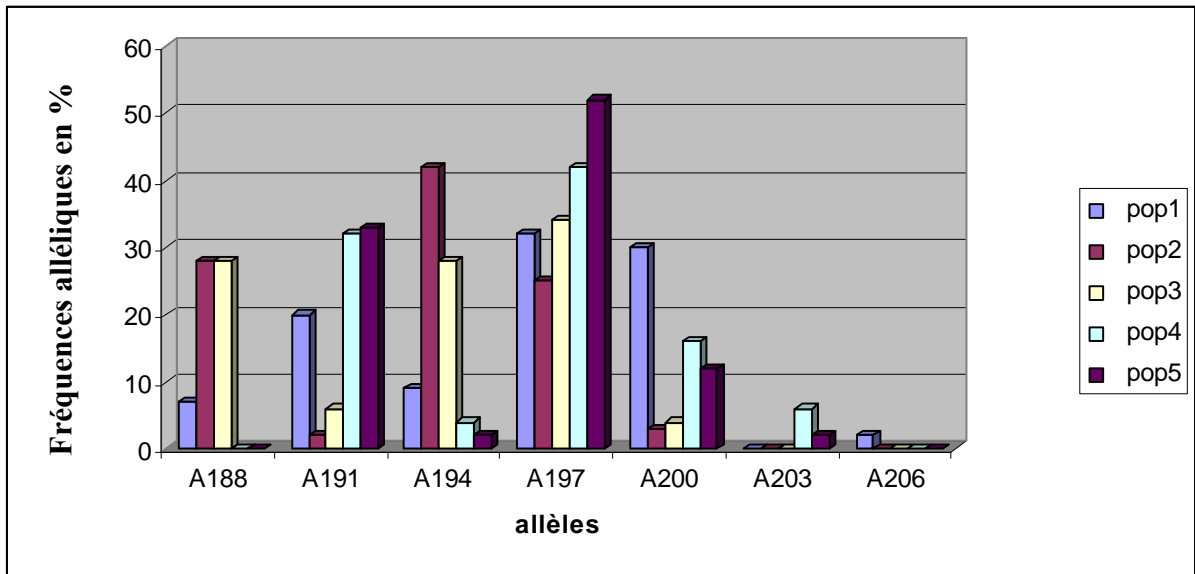


Figure 17 : Fréquences alléliques par population du marqueur GpCAG1

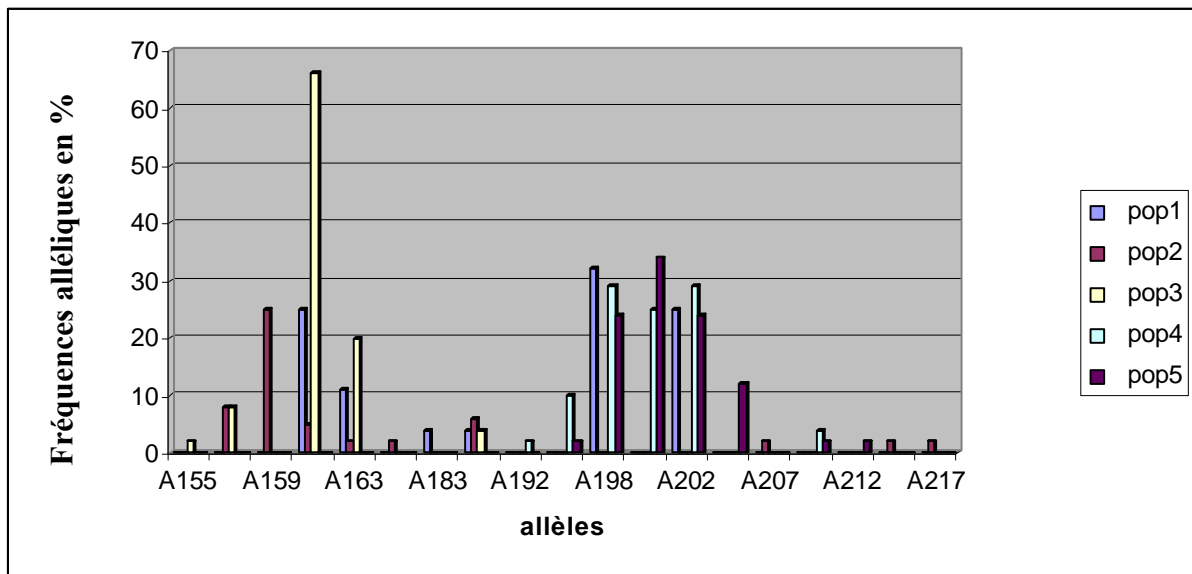


Figure 18 : Fréquences alléliques par population du marqueur B110

I-2) Taux d'hétérozygoties H

Lorsque le taux d'hétérozygotie observé (H_0) est inférieur au taux d'hétérozygotie théorique ou attendu (H_t), la population est considérée en déficit d'hétérozygotes. Dans le tableau précédent, pour tous les marqueurs, le taux d'hétérozygotie observé est inférieur au taux d'hétérozygotie théorique. Il est en ressort que pour toutes les populations, il y a un déficit d'hétérozygotes.

Tableau II : Taux d'hétérozygotie par microsatellite

marqueurs	Hétérozygotie théorique ou attendue (H_t)	Hétérozygotie observée (H_0)	Comparaison entre H_t et H_0	Hétérozygotie globale
55.3	0,691	0,281	$H_0 < H_t$	Déficit
A10	0,731	0,333	$H_0 < H_t$	Déficit
PGp13	0,814	0,680	$H_0 < H_t$	Déficit
PGp24	0,404	0,234	$H_0 < H_t$	Déficit
B104	0,802	0,544	$H_0 < H_t$	Déficit
C102	0,619	0,463	$H_0 < H_t$	Déficit
PGp1	0,867	0,468	$H_0 < H_t$	Déficit
GpCAG133	0,770	0,766	$H_0 < H_t$	Déficit
B110	0,847	0,537	$H_0 < H_t$	Déficit

II) RESULTATS DE LA MORPHOMETRIE ET DE LA GENETIQUE

II-1) Résultats de la morphométrie

II-1-1) Comparaison des populations mâles

Tableau III : Distances de Mahalanobis obtenues entre les populations mâles.

populations	Distances de Mahalanobis	p-value	significativité
1 et 2	2,33	0,0016	significative
1 et 3	2,29	0,0014	significative
1 et 4	2,22	0,0056	significative
1 et 5	2,25	0,0538	non significative
2 et 3	1,57	0,1904	non significative
2 et 4	1,56	0,2248	non significative
2 et 5	2,85	0,0004	significative
3 et 4	1,61	0,1906	non significative
3 et 5	2,63	0,0038	significative
4 et 5	2,41	0,0124	significative

II-1-1-1) Comparaison de la population 1 (Bléni) aux quatre autres populations

- Entre la population de Bléni et celle de Samadéni

La distance de mahalanobis obtenue est de 2,33. Sur 5000 permutations entre ces populations, 8 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,0016$).

Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Bléni et Samadéni.

- Cette distance de Mahalanobis est de 2,29, quand on fait une comparaison entre cette même population de Bléni et celle de Zamakologo. Sur les 5000 permutations effectuées entre ces deux populations, 7 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,0014$).

Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Bléni et Zamakologo.

- Lorsque la comparaison de cette population (Bléni) est faite avec la 4 (Minsin avec 22 ailes utilisées), la distance de Mahalanobis est de 2,22. Sur les 5000 permutations effectuées entre populations, 28 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,0056$).

Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Bléni et Minsin.

- Une comparaison un peu différente des précédentes est celle de Bléni à celle de Banzon rizière. En effet dans cette comparaison la distance de Mahalanobis est de 2,25, et sur les 5000 permutations effectuées entre populations, 269 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,0538$). Il n'y a donc pas de différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Bléni et de Banzon rizière.

II-1-1-2) Comparaison de la population de Samadeni à celles de Zamakologo, Minsin et Banzon rizière

- La comparaison de la population de Samadeni avec celle de Zamakologo et Minsin nous donne, respectivement, des distances de Mahalanobis de 1,57 et 1,56. Sur 5000 permutations entre populations (Samadeni et Zamakologo), 952 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,1904$). Pour les populations de Samadeni et Minsin on a 1124 qui donnent des distances plus

grandes entre populations sur les 5000 permutations ($p = 0,2248$). Il n'y a donc pas de différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Samadeni et Zamakologo d'une part et Samadeni et Minsin d'autre part.

- La comparaison de la population de Samadeni et Banzon rizière nous donne une distance de Mahalanobis de 2,85. Sur les 5000 permutations entre populations, 2 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,0004$). Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre ces deux sites.

II-1-1-3) Comparaison de la population de Zamakologo aux populations de Minsin et Banzon rizière

- Entre les populations de Zamakologo et Minsin la distance de Mahalanobis est de 1,61. Sur les 5000 permutations, 953 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,1906$). Il n'y a donc pas de différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Zamakologo et Minsin.
- Entre les populations de Zamakologo et Banzon rizière, la distance de Mahalanobis est de 2,63. Sur les 5000 permutations, 19 donnent des distances plus grandes entre populations ($p = 0,0038$). Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Zamakologo et Banzon rizière.

II-1-1-4) Comparaison de la population de Minsin et Banzon rizière

La distance de Mahalanobis pour ces deux populations est de 2,44. Sur les 5000 permutations, 62 donnent des distances plus grandes entre populations ($p =$

0,0124). Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre les sites de Minsin et Banzon.

II-1-2) Comparaison des populations femelles

Au vue du **tableau IV**, il convient de dire que les résultats présentés sont significatifs pour les comparaisons suivantes : Bleni et Samadeni, Bleni et Zamakologo, Bleni et Minsin, Bleni et Banzon rizière, Samadeni et Zamakologo, Samadeni et Banzon rizière, Zamakologo et Minsin, Zamakologo et Banzon rizière et enfin Minsin et Banzon rizière. Il existe donc une différence morphométrique significative des ailes de glossines entre ces différentes populations comparées. Il en ressort donc que les mouches de ces différents sites ne communiquent pas entre elles. Par ailleurs, il est important de dire que même si la migration existe, elle n'est pas assez importante pour influencer les résultats morphologiques.

Par contre entre les populations de Minsin et Samadeni, Il n'existe pas de différence morphométrique significative des ailes de glossines entre elles.

Tableau IV : Distances de Mahalanobis obtenues entre populations femelles.

populations	Distances de Mahalanobis	p-value	significativité
1 et 2	1,95	0,00	significative
1 et 3	2,47	0,00	significative
1 et 4	2,13	0,006	significative
1 et 5	1,68	0,0032	significative
2 et 3	1,71	0,00	significative
2 et 4	1,71	0,0732	non significative
2 et 5	1,82	0,00	significative
3 et 4	2,61	0,00	significative
3 et 5	2,73	0,00	significative

4 et 5	1,99	0,0168	significative
--------	------	--------	---------------

Le **tableau V** nous présente une comparaison entre les résultats obtenus avec les femelles et ceux obtenus avec les mâles.

Tableau V : tableau comparatif des résultats obtenus avec les ailes des mâles et des femelles

Analyses croisées	mâles	femelles	discordances
1 et 2	S	S	
1 et 3	S	S	
1 et 4	S	S	
1 et 5	NS	S	*
2 et 3	NS	S	*
2 et 4	NS	NS	
2 et 5	S	S	
3 et 4	NS	S	*
3 et 5	S	S	
4 et 5	S	S	

S : Significantive
NS : Non Significantive
* : Discordance

II-2) RESULTATS DE LA GENETIQUE DES POPULATIONS (F-STATISTIQUES).

L'estimateur de Weir et Cockerham (**WEIR et COCKERHAM, 1984**) donne un *Fis* (déficit en hétérozygotes) global de 0,224 et un *Fis* par population de 0,297 pour la population 1 (Bléni), 0,289 pour la population 2 (Samadeni), 0,206 pour la 3 (Zamakologo), 0,164 pour la 4 (Minsin) et enfin 0,212 pour la 5 (Banzon rizière) (**figure 20**). Ces *Fis* sont tous significatifs car la $p = 0,001$. Le *Fis* correspond à un indice de fixation de l'individu au sein d'une population. Les populations sont donc très structurées.

Le F_{st} global est 0,159 ($p = 0,0002$). Ce résultat de F_{st} indique qu'il y a une différenciation génétique marquée et significative entre les cinq populations de glossines échantillonnées. Le F_{st} mesure la fixation de la sous-population dans la population (effet Wahlund). Cela nous indique que nous avons affaire à des populations distinctes.

Par ailleurs, le H_s (hétérozygotie intra-population) est de 0,6, donc le F_{st} max qui correspond à $(1-H_s)$ est de 0,4. S'il était proche de 1, une absence de migrants serait probable. Sa faible valeur suggère plutôt un flux de gène ou un isolement récent entre ces populations. Dans un modèle en île infini (**WRIGHT, 1951**), à l'équilibre entre mutations et dérive, et en supposant un taux de mutation négligeable, cela correspondrait à un nombre de migrants N_m de 0,39 individus /génération [$N_m = (1 - F_{st}) / 4 \times F_{st}$]. Ce modèle de présentation des résultats ne donne qu'un aperçu général sur le dynamisme des cinq populations étudiées. Pour mieux comprendre les relations qui existent entre ces différentes populations, il est capital de présenter les résultats par paires de populations.

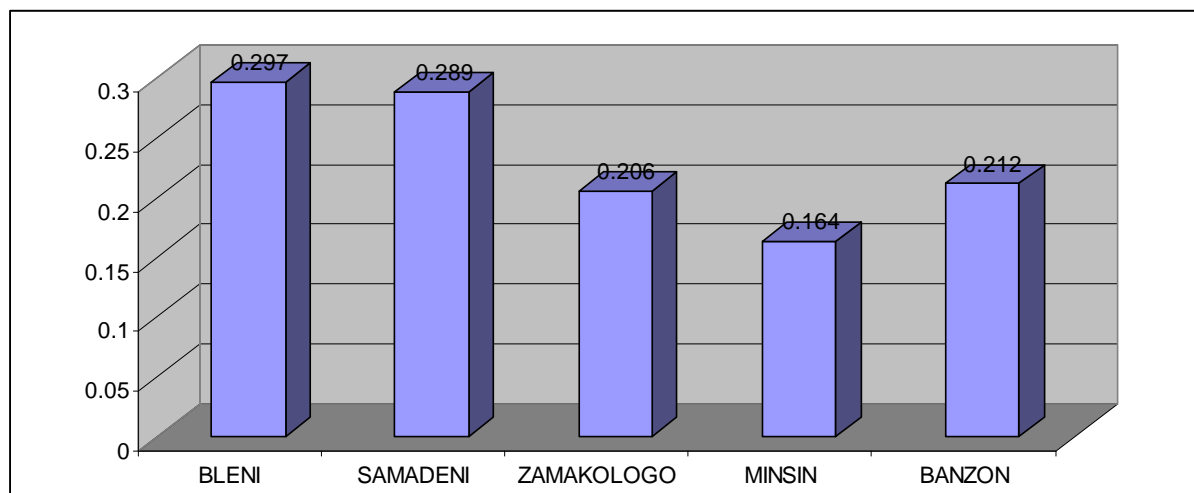


Figure 19 : Diagramme représentant les Fis par population

✓ Comparaison des populations par paire

Entre les populations de Bleni et Samadeni, le F_{st} est de 0,1727 ($p = 0,005$). Il existe donc une différence génétique significative entre ces deux populations. Le

Fst max qui correspond à (1-Hs) est donc d'une valeur de 0,4. Ainsi, le F_{st}' est de 0,43, le nombre de migrants $N_m = (1 - F_{st}') / (4 \times F_{st}')$ entre ces deux populations est de 0,33 par génération, soit environ 1 migrant en 3 générations. Ce résultat obtenu avec les populations de Bleni et Samadeni est à quelques différences près semblable à ceux obtenus avec les paires de populations suivantes : Bleni et Zamakolgo, Bleni et Banzon rizière, Samadeni et Zamakolgo, Samadeni et Minsin, Samadeni et Banzon rizière, Zamakolgo et Minsin, et enfin Zamakolgo et Banzon rizière (**tableau VI**).

Entre les populations de Minsin et Banzon rizière, le Fst est de 0,0259 (non significatif car la $p = 0,02$). Il n'existe donc pas de différence génétique significative entre ces populations. Ce résultat est proche de celui obtenu entre les populations de Bleni et Minsin.

Tableau VI : Tableau complet des Fst, des p-values et de leurs significativités.

Paires de Populations	Fst	Fstmax (1-Hs)	Fst' (Fst/Fst max)	p-values	significativité	Nm/génération [Nm = (1 - Fst)/ 4×Fst].
1 et 2	0,1727	0,4	0,43	0,005	significative	0,33
1 et 3	0,2059	0,4	0,51	0,005	significative	0,24
1 et 4	0,0325	0,4	0,08	0,015	Non significative	
1 et 5	0,0740	0,4	0,185	0,005	significative	1,1
2 et 3	0,0486	0,4	0,12	0,005	significative	1,8
2 et 4	0,2128	0,4	0,53	0,005	significative	0,21
2 et 5	0,2074	0,4	0,51	0,005	significative	0,23
3 et 4	0,2597	0,4	0,64	0,005	significative	0,14
3 et 5	0,2451	0,4	0,61	0,005	significative	0,15
4 et 5	0,0259	0,4	0,06	0,02	Non significative	

Parmi les dix (10) comparaisons, huit (8) ont été trouvées significatives et deux (2) non significatives. Il en ressort donc qu'il y a une barrière aux flux de gènes entre les populations concernées par ces huit comparaisons. Par contre, pour les deux autres comparaisons, c'est-à-dire : celle de Bleni et Minsin, et celle de Minsin et Banzon rizière il n'y a pas de structuration significative.

CHAPITRE III : DISCUSSION

I) MORPHOMETRIE

Cette étude a été menée pour étudier la structure de la population de *G. p. gambiensis*, vecteur principal de la trypanosomose animale africaine. Elle est particulièrement présente dans la zone d'étude et une bonne connaissance de la structuration de sa population est un outil très solide afin de participer à la connaissance de l'épidémiologie de la maladie et éventuellement d'entamer son éradication de la zone.

L'approche morphométrique permet dans un premier temps, à moindre frais, d'avoir une idée sur la structuration de la population. Les résultats de la morphométrie géométrique sont très intéressants. L'étude des mâles et des femelles nous renseigne sur la structuration des cinq (5) populations étudiées. Cette étude, effectuée par paires de populations nous montre qu'il y a des différences morphologiques significatives entre certaines populations, mais aussi des différences morphologiques non significatives entre d'autres. Par ailleurs, il est important de signaler que le nombre d'ailes obtenues au niveau de la population 5 (Banzon rizière) des mâles et de la population 4 (Minsin) des femelles est relativement bas pour être pris en compte. Par conséquent les résultats liés à ces deux populations sont à considérer avec plus de prudence.

Le **tableau V** nous indique donc une différence morphologique significative entre les populations de Bleni et Samadeni, Zamakologo et Minsin puis entre Samadeni et Banzon rizière et enfin entre Zamakologo et Banzon rizière. Et cela est aussi bien observé chez les femelles que chez les mâles. Au niveau de ces populations, la distance de Mahalanobis est élevée avec un nombre de migrants trop faible pour être prise en compte. Cette différence

morphométrique pourrait être liée en partie aux conditions environnementales. En effet, une partie des populations a été capturée au mois de novembre 2007 (Bleni, Minsin et Rizière Banzon) et l'autre au mois de février 2008 (Samadeni et Zamakologo).

Au Burkina Faso, le mois de novembre annonce le début de la saison sèche avec évidemment une rareté des pluies. Les galeries de ces différentes zones sont conservées et donc favorables à la survie des glossines. D'après **BOUYER (2006)**, les Densités Apparentes (DAP) sont négativement corrélées à la dégradation de la galerie. Ce constat est bien vérifié dans notre étude avec des DAP relativement élevées dans la zone de Samadeni (4 à 8). Cette répartition ne pourrait être observée si une partie de la galerie n'était pas conservée. D'une façon générale une glossine se déplace en permanence pour trouver des hôtes, se replacer dans des conditions optimales de température et d'humidité ou pour se reproduire (recherche des femelles chez les mâles, recherche de gîtes larvipositions chez les femelles) (**CUISANCE et al., 1983 ; CUISANCE et al., 1985**). Toutes les conditions favorables étant réunies sur place (température, humidité, gîtes de pupaisons), c'est-à-dire dans nos zones d'étude, cela va limiter le déplacement des mouches tsé-tsé.

Le mois de février quant à lui, est situé au cœur de la saison sèche, avec une absence complète des pluies. Ce mois est caractérisé par les vents secs d'harmattan qui soufflent du nord-est au sud-ouest. En général, on observe une chute des densités apparentes avec la saison sèche froide, en relation avec un allongement de la durée de pupaison associée à une mortalité importante des glossines ténérales éclosant avec une réserve de graisses faibles (**BOUYER, 2006**). Le site de Zamakologo, plus dégradé que les autres, traduit bien cette réalité avec des DAP relativement faibles allant de 0 à 3,4 et un nombre de migrants faible pour influencer la morphométrie des populations de Bleni et Banzon rizière. Par ailleurs, signalons que malgré le rapprochement géographique qui existe entre la population de Banzon et celle de Minsin, le

nombre de migrants semble être faible. Cette population de Banzon présente aussi une différence morphométrique avec les trois autres populations concernées par l'étude. La précédente remarque est une particularité dans notre étude. Elle peut sans doute s'expliquer par la présence de grandes rizières à Banzon empêchant ainsi le passage des mouches de ce site aux autres et vis versa. A cela s'ajoute le fait que la galerie de Banzon est relativement bien conservée et beaucoup fréquentée par les hommes et animaux, offrant ainsi des conditions de vie favorables aux glossines. Par contre, entre les populations de Samadeni et Minsin, cette différence morphologique n'est pas significative, et cela tant chez les mâles que chez les femelles. Entre les populations de Zamakologo et Minsin le constat est le même pour les mâles, alors que chez les femelles le résultat est inexploitable à cause du nombre trop faible d'ailes disponibles. Cette différence non significative observée entre ces populations est vraisemblablement liée au rapprochement géographique de ces différents sites de capture. Dans le **tableau V**, trois (3) discordances ont été observées entre le résultat des mâles et des femelles. Toutefois, vue de façon rationnelle et selon les critères d'analyses morphométriques, seule la discordance observée entre les populations de Samadeni et Zamakologo demeure valable. Les deux autres sont probablement liées au nombre d'ailes trop bas récolté à Banzon rizière pour les mâles et à Minsin pour les femelles. En définitive, nous pouvons dire que la morphométrie, donne des résultats relativement satisfaisants. Elle nous donne une idée sur la structuration des populations proche de celle observée par la génétique des populations.

II) LA GENETIQUE DES POPULATIONS

L'étude des microsatellites (**JARNE et LAGORDA, 1996**) est un excellent outil pour la connaissance de la structuration des populations. Ceux-ci ont déjà fait leurs preuves dans l'étude de la génétique de plusieurs arthropodes

vecteurs de maladies (**LANZARO, ZHENG et al., 1995; DE MEEUS, BEATI et al., 2002**) et plus particulièrement des glossines (**SOLANO, MICHEL et al., 1999; GOODING and KRAFSUR, 2005 ; BOUYER 2006; CAMARA et al., 2006**).

Les Fis (déficit en hétérozygotes) mesurés au sein de ces différentes populations sont relativement élevés. Le Fis global qui est de 0,224 est à l'image des fis enregistrés au sein de ces différentes populations. Ce Fis positif indique qu'il y a de façon générale un déficit important et significatif en hétérozygotes au sein des cinq (5) populations récoltées. La population de Minsin avec 0,164 et celle de Bleni avec 0,297 présentent les deux extrêmes de Fis. Cette valeur positive globale du Fis peut être due à la présence d'allèles nuls comme rapporté dans d'autres études (**CAMARA et al., 2006**). Un effet Wahlund peut aussi expliquer ce résultat, car cet effet est généralement observé dans l'échantillonnage de plusieurs sous populations (ou espèces criptiques) dans les mêmes pièges.

Les Fst enregistrés au cours de notre étude sont relativement élevés, en comparaison à ceux enregistrés habituellement (**CAMARA et al., 2006**). La plupart des Fst obtenus entre les populations sont significatifs. En effet, des dix (10) analyses croisées qui ont été réalisées, seulement deux (2) sont non significatives. Ce constat montre aisément qu'une grande partie des comparaisons indique une différenciation, et cela du point de vue génétique. Une analyse minutieuse de la seule population du fleuve Niger (Bleni) avec les autres populations du Mouhoun révèle une migration probable des mouches entre Bleni et Minsin. Par contre, il n'y a pas de migration entre cette même population du Niger et celle de Zamakologo ainsi que Banzon et Samadeni. Par ailleurs, l'analyse d'une image satellite révèle la présence d'une rizière à Banzon (**Voir annexe 1**). La présence de cette rizière est certainement à l'origine de la différenciation génétique entre Bleni et Banzon. Il transparait donc clairement que la présence de rizière à Banzon serait à l'origine des Fst élevés pour la

plupart des comparaisons. Par contre, Minsin, qui est géographiquement proche de Banzon entretient une interrelation avec Bleni. Ce dernier constat vient confirmer d'avantage notre hypothèse de passage de glossines entre bassins. Cependant, force est de remarquer que malgré la présence de cette rizière, il y a une migration des glossines entre Minsin et Banzon. **Selon le tableau (VI)**, le F_{st} entre ces deux populations est de 0,0259. Cette valeur est relativement basse par rapport aux autres. Cette rizière semble donc ne pas pouvoir bloquer complètement l'écoulement des gènes quand la distance géographique entre les deux populations est réduite, mais pourrait constituer une zone favorable à l'implantation d'une barrière à la dispersion. Ce secteur est aussi employé comme un secteur pastoral pour les troupeaux. Ces derniers et les riverains pourraient contribuer à faire passer les mouches d'un site à l'autre de façon passive.

Quand bien même, une faible communication est possible entre les populations de Bleni et Minsin, nous pouvons dire que les populations du Mouhoun sont en majeure parties isolées du Niger. Toutefois nos résultats doivent être considérés avec beaucoup de prudence. En effet si au niveau du Mouhoun, quatre sous-populations sont disponibles, au niveau du Niger seulement une seule population a été échantillonnée. Cette étude présente des résultats très intéressants sur la structuration des populations de glossines dans les zones d'étude. La génétique présente à quelques différences près des résultats similaires à ceux de la morphométrie. Ainsi donc, entre les populations suivantes : Bleni et Minsin, Minsin et Banzon rizière, la génétique des populations indique un passage des mouches par contre la morphométrie révèle le contraire, ces différences morphométriques pourraient être liées en partie, à des contraintes environnementales. La génétique, en s'affranchissant de l'effet de l'environnement offre des résultats plus fiables que la morphométrie.

En gros, cette étude nous donne des possibilités de lutte différées pour des populations comme Bleni et Samadeni et simultanées pour Bleni et

Zamakologo. Toutefois, pour étudier plus précisément l'isolement entre ces deux bassins, il est nécessaire d'augmenter le nombre de sous-populations sur le fleuve Niger.

III : RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude, certaines suggestions ou propositions s'imposent en vue d'une amélioration des méthodes de lutte. Cette étude présente des résultats très intéressants sur la structuration des cinq (5) populations. Le processus d'élimination des glossines peut être entamé de manière successive ou non conjointe et cela en fonction des résultats obtenus.

- entre les populations 1 (Bleni) et 4 (Minsin), et 4 (Minsin) et 5 (Banzon) la lutte doit être entreprise de façon simultanée pour éviter les réinvasions, vue que ces différentes populations ne sont pas isolées les unes des autres. Il y a un échange de matériel génétique ou de mouches entre elles. Ainsi, une lutte différée entrainerait une réinfestation de la zone précédemment traitée.
- Pour les huit autres comparaisons, la lutte peut être menée de façon différée pour chaque comparaison. En effet, pour ces différentes comparaisons il n'y a pas d'écoulement de gènes, on peut donc attaquer les populations les unes après les autres, puisqu'il n'y a pas de risque de voir la zone précédemment traitée être réinfestée par des glossines migrantes.

Ces deux propositions de lutte contre les glossines ne sont valables que si l'on considère les comparaisons séparément. Cependant, lorsque les cinq (5) populations sont intégrées dans un système, la lutte doit être réalisée simultanément. En effet, même s'il n'y a pas de communication entre la population de Banzon et Bleni, celle de Bleni quant à elle communique avec Minsin et cette dernière avec Banzon.

Par ailleurs, il est important de signaler que si les résultats de la génétique des populations sont fiables, ceux obtenus avec la morphométrie alaire mériteraient d'être approfondis. Il serait donc intéressant d'entreprendre d'autres missions de capture sur les sites de Minsin et Banzon. En effet, au cours de notre étude, le nombre d'ailes utilisées pour ces deux sites était insuffisant pour mener une analyse rationnelle. Car théoriquement, le nombre d'individus par groupe doit être plus du double du nombre de landmarks.

CONCLUSION GENERALE

Le Burkina Faso, situé dans le triangle cotonnier, comme beaucoup d'autres pays Ouest-africains, est une zone d'intervention prioritaire contre les trypanosomoses animales africaines. L'importance économique et sanitaire de ces maladies, a motivé la mise en œuvre d'actions en vue de son éradication. Ces actions visaient l'élimination des glossines, principaux vecteurs des TAA. Selon **BOUYER (2006)**, la lutte contre les glossines suppose une connaissance approfondie de leur écologie. Ainsi, au cours de ces dernières années, plusieurs études ont été menées au CIRDES en vue de connaître la structuration des populations de glossines.

L'objectif de ce travail était d'étudier l'isolement des populations de glossines du Mouhoun par rapport à celles des bassins qui lui sont adjacents. Cette étude a porté sur cinq (5) populations dont une récoltée à Bleni sur le fleuve Niger et quatre à Samadeni, Zamakologo, Minsin et Banzon sur le fleuve Mouhoun. Au total 158 individus ont été génotypés et 51 individus mâles et 87 femelles utilisés pour la morphométrie alaire.

L'analyse des données morphométriques a donné les résultats suivants :

-pour les individus mâles, sur les dix (10) comparaisons effectuées, seules quatre indiquent qu'il n'y a pas d'isolement entre populations (Bleni et Banzon, Samadeni et Zamakologo, Samadeni et Minsin et enfin Zamakologo et Minsin) et les six (6) autres comparaisons indiquent un isolement.

- pour les individus femelles, sur les 10 comparaisons possibles, une seule indique qu'il y a communication entre populations (Samadeni et Minsin). Les neuf (9) autres montrent qu'il n'y a pas de communication entre populations, c'est-à-dire qu'il existe un isolement entre ces différentes populations comparées.

L'analyse des données génétiques montre que parmi les dix (10) comparaisons effectuées, huit (8) ont été trouvées significatives et deux (2) non significatives. Il en ressort donc qu'il y a une barrière aux flux de gènes entre les populations concernées par ces huit comparaisons. Par contre, pour les deux autres comparaisons, c'est-à-dire : celle de Bleni et Minsin, et celle de Minsin et Bazon rizière il n'y a pas de structuration significative.

Ces différents résultats obtenus permettent d'aborder de façon rationnelle la lutte contre le vecteur (mouche tsé-tsé). Dans les zones où il y a un isolement, chaque population peut être attaquée successivement et non de manière concomitante, et cela sans risque de voir la zone précédemment traitée être réinfestée. Par contre dans les zones où il n'y a pas d'isolement, la lutte contre les vecteurs doit être entreprise simultanément. Cette façon de procéder évite des reinvasions de zones déjà traitées.

Il faut ajouter que les résultats de la morphométrie géométrique mériteraient d'être approfondis. De nouveaux piégeages devraient être menés, surtout à Minsin et Bazon sur de plus longues durées, afin d'obtenir des effectifs suffisants pour garantir la puissance du test.

De plus, il serait également intéressant d'estimer la durée de l'isolement des populations et d'évaluer l'impact de l'élimination des glossines sur la prolifération éventuelle d'une autre espèce nuisible à l'élevage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AKOL G. O. et MURRAY M., 1986.

Parasite kinetics and immune responses in efferent prefemoral lymph draining skin reactions induced by tsetse transmitted *Trypanosoma congolense*. *Veterinary parasitology*. **19**: 281 -293

2. BAKER M. D. et KRAFSUR E. S., 2001.

Identification and properties of microsatellite markers in tsetse flies *Glossina morsitans sensus lato* (Diptera: Glossinidae). *Mol. Ecol. Notes* **1**: 234-236

3. BAUER B., AMSLER-DELAFOSSÉ S., KABORÉ I., KAMUANGA M., 1999.

Improvement of cattle productivity through rapid alleviation of African Trypanosomosis by integrated disease management practices in the Agropastoral zone of Yalé, Burkina Faso. *Tropical Animal Health and Production* **31**: 89-102.

4. BOOKSTEIN F., 1991.

Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. New York, Cambridge University Press.

5. BOUYER J., KABORÉ I., STACHURSKI F., DESQUESNES M., 2005a.

Le piégeage des insectes vecteurs. Santé animale en Afrique de l'Ouest, Recommandations Techniques, CIRDES/CIRAD 20.

6. BOUYER J., 2006.

Ecologie des glossines du Mouhoun au Burkina Faso : intérêt pour l'épidémiologie et le contrôle des trypanosomoses africaines. Thèse doctorale de Parasitologie (Entomologie médicale). Université Montpellier II. 35p.

7. BOUYER, J. et Z. BENGALY., 2006.

Evaluation de la situation entomologique et épidémiologique en vue de l'élaboration d'un plan de lutte contre les trypanosomoses animales et leur vecteur dans la zone d'intervention du PAEOB. CIRDES/CIRAD, Bobo Dioulasso, Burkina Faso.

8. BOUYER J., GUERRINI L., CESAR J., DE LA ROCQUE S., CUISANCE D., 2005.

A phyto-sociological analysis of the distribution of riverine tsetse flies in Burkina Faso. *Med. Vet. Entomol.* (19) : 372–378.

9. BOUYER J., GUERRINI L., DESQUESNES M., DE LA ROCQUE S., CUISANCE D., 2006.

"Mapping African Animal Trypanosomosis risk from the sky." *Vet. Res.* 37 (5) : 633- 45.

10. BOUYER J. et STACHURSKI F., 2007.

"Tsetse control in cattle from pyrethroid footbaths." *Prev. Vet. Med.* 78 (3-4): 223-38.

11. BRODEN A., 1904.

Les infections à trypanosomes au Congo chez l'Homme et les animaux : Communication préliminaire. Bulletin de la Société d'Etudes Coloniales : 116 – 139

12. BURSELL E., 1960.

The measurement of size in tsetse flies (*Glossina*). Bulletin of Entomological Research **51** (1): 33-37.

13. CAMARA M., HARLING CARO-RIÑO H., RAVEL S., DUJARDIN J.-P., HERVOUET J.-P., DE MEEÛS T., KAGBADOUNO M. S., BOUYER J., SOLANO P., 2006.

Genetic and morphometric evidence for isolation of a tsetse (Diptera: Glossinidae) population (Loos islands, Guinea). J. Med. Entomol. 43: 853 - 860.

14. CENE B., YONI W., BOUYER J., DESQUESNES M., KABORE I., 2005.

L'imprégnation d'écrans à l'insecticide. Santé animale en Afrique de l'Ouest, Recommandations Techniques, CIRDES/CIRAD 22.

15. CHALLIER A., 1973. Ecologie de *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank, 1949 (Diptera- Muscidae) en savane d'Afrique occidentale. ORSTOM, Paris, France. 274 p.

16. CHALLIER A. et LAVEISSIERE C., 1973.

Un nouveau piège pour la capture des glossines (*Glossina*: Diptera, Muscidae): description et essais sur le terrain. Cahier O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie **10** (4): 251- 262.

17. CHALLIER A., EYRAUD M., LAFAYE A., LAVEISSIERE C., 1977.

Amélioration du rendement du piège biconique pour glossines (Diptera :

Glossinidae) par l'emploi d'un cone inférieur bleu. Cahiers de l'ORSTOM, Série Entomologie médicale et Parasitologie XV: 283-286.

18. CHALLIER A. et GOUTEUX J. P., 1980.

Ecology and epidemiological importance of *Glossina palpalis* in the Ivory Coast forest zone. Insect. Science and its Application (1) : 77-83.

19. CHARTIER C., ITARD J., MOREL P. C., 2000.

Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. – Maisons Alfort : IEMVT. France. –p305

20. CLAUSEN P. H., SIDIBE I., BASSINGA A., 1993. Pathogenesis and pathology of African trypanosomiasis in Baoulé, N'Dama / Baoulé, cross bred and zebu cattle in Burkina Faso. Clinical performance under high natural tsetse challenge. *Tropical Medicine and Parasitology*. (44) : 99 – 107

21. CUISANCE D., 1989.

Le piégeage des tsé-tsé. Cirad, Montpellier. 172 p.

22. CUISANCE D., ITARD J., SOLANO P., DESQUESNES M., FREZIL J. L., AUTHIE E., 2003b.

Trypanosomoses. Méthodes de lutte. pp. 139-165. In Editions Tec et Doc and Editions Médicales internationales. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et Régions chaudes. Lavoisier, Paris, France.

23. CUISANCE D., ITARD J., SOLANO P., DESQUESNES M., FREZIL J. L., AUTHIE E., 2003.

Trypanosomoses. Méthodes de lutte, pp. 139-165. *In* Tec et Doc and Editions Médicales Internationales [eds.], Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et Régions chaudes. Lavoisier, Paris, France

24. CUISANCE D. et POLITZAR H., 1983.

Etude de l'efficacité contre *Glossina palpalis gambiensis* et *Glossina tachinoides* de barrières constituées d'écrans ou de pièges biconiques imprégnés de DDT, de Deltaméthrine ou de Dieldrine. Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux (36) : 159-168.

25. CUISANCE D., FEVRIER J., DEJARDIN J., FILLEDIER J., 1985.

Dispersion linéaire de *Glossina palpalis gambiensis* et *G. tachinoides* dans une galerie forestière en zone soudano-guinéenne (Burkina Faso). Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux 38 (2): 153-172.

26. CUISANCE D., POLITZAR H., MEROT P., TAMBOURA I., 1984.

Les lâchers de mâles irradiés dans la campagne de lutte intégrée contre les glossines dans la zone pastorale de Sidéradougou, Burkina Faso. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. (37) : 449-468.

27. DAVIES H., 1967.

Les Glossines dans le Nord-Nigeria. Ibadan University Press, Maisons-Alfort. 260 p.

28. DE LA ROCQUE S., MICHEL J. F., BOUYER J., DE WISPELAERE G., CUISANCE D., 2005.

Geographical Information Systems in parasitology: a review of potential applications using the example of animal trypanosomosis in West Africa. *Parassitologia* (47) : 97-104.

29. DE LA ROCQUE S., LEFRANCOIS T., REIFENBERG J. M., SOLANO P., KABORE L., BENGALY Z., AUGUSSEAUX X., CUISANCE D., 1998.

"PCR analysis and spatial repartition of trypanosomes infecting tsetse flies in Sideradougou area of Burkina Faso." *Ann N Y Acad Sci* (849): 32-8

30. DE MEEÛS T., BEATI L., DELAYE C., AESCHLIMANN A., RENAUD F., 2002.

"Sex bisased genetic structure in the vector of Lyme disease, *Ixodes ricinus*." *Evolution* (56) : 1802-1807.

31. DE MEEÛS T., MCCOY K. D., PRUGNOLLE F., CHEVILLON C., DURAND P., HURTREZ-BOUSSES S., RENAUD F., 2006.

Population genetics and molecular epidemiology or how to "débusquer la bête". *Infection, Genetics and Evolution* in press.

32. DESQUESNES M. et DIA M. L., 2003a.

Mechanical transmission of *Trypanosoma congolense* in cattle by the African tabanid *Atylotus agrestis*. *Experimental Parasitology* 105 (3-4): 226-231.

33. DESQUESNES M. et DIA M. L., 2003c.

Trypanosoma vivax: mechanical transmission in cattle by one of the most common African tabanids, *Atylotus agrestis*. *Experimental Parasitology* 103 (1-2): 35-43.

34. DESQUESNES M. et DIA M. L., 2004.

Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. *Veterinary Parasitology* **119** (1): 9-19.

35. DUJARDIN J. P. et SLICE D., 2006.

Contributions of Morphometrics to Medical Entomology. Chapter 24. pp. in press. In M. Tibayrenc. *Encyclopedia of infectious diseases: Modern methodologies*. Wiley & Sons.

36. EMERY D. L., WELLS P. W., TENYWA T., 1980.

Trypanosoma congolense : specific transformation in vitro of leukocytes from infected or immunized cattle. *Experimental Parasitology*. **(50)**: 358 – 368

37. FALCONER D. S., 1991.

Introduction to quantitative genetics, Longmannn éd. 365

38. GOODING R. H. et KRAFSUR E. S., 2005.

"Tsetse genetics: contributions to biology, systematics, and control of tsetse flies." *Annu Rev Entomol* **(50)**: 101-23.

39. GOODING R. H., SOLANO P., RAVEL S., 2004.

X-chromosome mapping experiments suggest occurrence of cryptic species in the tsetse fly *Glossina palpalis palpalis*. *Canadian Journal of Zoology* **(82)**: 1902–1909.

40. GOUDET J., 1995.

FSTAT (v. 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* **86** (6): 485-486.

41. HENDRICKX G. S., 2001.

Strategic planning of Area-Wide Tsetse and Trypanosomosis Control in West Africa. FAO/IAEA

42. HOWELL D. M. B. E., 1967.

Manuel destiné au personnel de lutte contre les glossines. I.E.MV.T., 260p

43. HURSEY B. S. et SLINGENBERGH J., 1995.

The tsetse fly and its effects on agriculture in sub-Saharan Africa, Rev. Mond. Zootech. (84): 67-73

44. ITARD J., 1986.

Les Glossines ou Mouches tsé-tsé. – Maisons Alfort : IEMVT ; Division Enseignement : France. (15) : 100-155

45. ITARD J., CUISANCE D., TACHER G., 2003.

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et régions chaudes (tome 2). P1605-1646

46. ITARD J., CUISANCE D., TACHER G., 2003.

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et régions chaudes (tome 1). P139-162

47. ITARD J. et CUISANCE D., 2003.

Vecteurs cycliques des trypanosomoses. pp. 139-165. In Editions Tec et Doc and Editions Médicales internationales. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et Régions chaudes. Lavoisier, Paris, France.

48. JARNE P. et LAGORDA P. J. J., 1996.

"Microsatellites, from molecules to populations and back." Trends Ecol. Evol. (11): 424-429.

49. KRAFSUR E. S., 2002.

Population structure of the tsetse fly *Glossina pallidipes* estimated by allozyme, microsatellite and mitochondrial gene diversities. Insect Molecular Biology (11): 37-45.

50. KRAFSUR E. S. et ENDSLEY M. A., 2002.

Microsatellite diversities and gene flow in the tsetse fly, *Glossina morsitans s.l.* Medical and Veterinary Entomology (16): 292-300.

51. KRAFSUR E. S., 2003.

Tsetse fly population genetics: an indirect approach to dispersal. Trends in Parasitology 19 (4): 162-166.

52. LANZARO G., ZHENG L., TOURE Y. T., KAFATOS F.T., 1995.

"Microsatellite DNA and isozyme variability in a West African population of *Anopheles gambiae*." Insect Mol Biol (4): 105-112.

53. LAUNOIS M., CHARBONNIER G., GRACIA-LAVEISSIERE G., CUISANCE D., DUVALLET G., 2004.

La mouche tsé-tsé pédagogique. (FRA), 56p, (collection les savoirs partagés).

54. GUERRINI L., BOUYER J., DE LA ROCQUE S., DESQUESNES M., 2005.

Spatialisation du risque trypanosomien. Santé animale en Afrique de l'Ouest, Recommandations Techniques, CIRDES/CIRAD19

55. LAVEISSIERE C. et COURET D., 1980.

Lutte contre les glossines riveraines à l'aide de pièges biconiques imprégnés d'insecticide, en zone de savane humide. 1- description du lieu, du matériel et de la méthode. Cahiers O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie **18 (3): 201-207.**

56. LAVEISSIERE C. et GREBAUT P., 1990.

Recherches sur les pièges à glossines (Diptera, Glossinidae). Mise au point d'un modèle économique : le piège "Vavoua". Tropical Medicine and Parasitology **(41): 185-192.**

57. LAVERAN A., 1902.

Sur un nouveau trypanosome des bovidés. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. **(134): 512p**

58. LEFEVRE P.C. et CHERMETTE R., 2003.

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Londres, Paris, New-York, TEC & DOC.

59. LEFRANCOIS T., SOLANO P., 1998.

"New epidemiological features on animal trypanosomiasis by molecular analysis in the pastoral zone of Sideradougou, Burkina Faso." *Mol Ecol* **7**(7): 897-904.

60. LUNA C., BONIZZONI M., CHENG Q., ROBINSON, AKSOY S., ZHENG L., 2001.

Microsatellite Polymorphism in Tsetse Flies (Diptera: Glossinidae). *Journal of Medical Entomology* **38** (3): 376-381.

61. MOREL P. C., 1978.

Les arbres et arbustes des savanes ouest-africaines (Document pour l'étude de l'écologie des glossines). Gesellschaft für technische Zusammenarbeit, Eschborn (Deutsche Bundesrepublik). 75 p.

62. MORTELMANS J., 1986.

Quelques aspects économiques en rapport avec la parasitologie vétérinaire. *Tropicultura*. (4): 112-116

63. NASH T. A. M., 1937.

Climate, the vital factor in the ecology of *Glossina*. *Bulletin of Entomological Research* (28): 75-127.

64. PLIMMER H. G. et BRADFORD J. R., 1899.

A preliminary note on the morphology and distribution of the organism found in the tsetse fly disease. *Proceedings of the Royal Society of London*, B **65**, 274

65. POLITZAR H. et CUISANCE D., 1984.

An integrated campaign against riverine tsetse flies *Glossina palpalis gambiensis* and *Glossina tachinoides* by trapping and the release of sterile males. *Insect. Sci. Applic.* (5): 439-442.

66. POLLOCK J. N., 1982.

Manuel de lutte contre la mouche tsé-tsé: Volume 2 : Ecologies et comportement des tsé-tsé. (FAO). 114p

67. RAVEL S., DE MEEUS T., DUJARDIN J. P., ZÉZÉ D. G., GOODING R. H., DUSFOUR I., SANÉ B., CUNY G., SOLANO P., 2006a.

The tsetse fly *Glossina palpalis palpalis* is composed of several genetically differentiated small populations in the sleeping sickness focus of Bonon, Côte d'Ivoire. *Infection, Genetics and Evolution* in press.

68. ROGERS D. J. et RANDOLPH S. E., 1991.

Mortality rate and population density of tsetse flies correlated with satellite imagery. *Nature* (351): 739-741.

69. ROGERS D. J. et RANDOLPH S. E., 1993.

Distribution of tsetse and ticks in Africa: past, present and future. *Parasitology Today* 9 (7): 226-271.

70. ROHLF F. J., 1990.

Rotational fit (Procrustes) methods. In F. J. Rohlf and F. L. Bookstein. *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. University of Michigan Museums, Ann Arbor.

71. ROHLF F. J., 1996.

Morphometric spaces, shape components and the effects of linear transformations. pp. 117-129. In L.F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G.J.P. Naylor and D. Slice. *Advances in Morphometrics. Proceedings of the 1993 NATO-ASI on Morphometrics NATO ASI, Series A, Life Sciences.* Plenum Publication, New York.

72. SHAW A. P. M., 2003.

Economic guidelines for strategic planning of tsetse and trypanosomiasis control in West Africa, FAO, Rome.

73. SOLANO P., REIFENBERG J. M., AMSLER-DELAFOSSÉ S., KABORE I., CUISANCE D., DUVALLET G., 1996.

Trypanosome characterization by polymerase chain reaction in *Glossina palpalis gambiensis* and *G. tachinoides* from Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology* (10): 354-358.

74. SOLANO P., DUVALLET G., DUMAS V., CUISANCE D., CUNY G., 1997.

Microsatellite markers for genetic population studies in *Glossina palpalis* (Diptera : Glossinidae). *Acta Tropica* 65: 175-180.

75. SOLANO P., 1998.

Implication épidémiologique de la variabilité génétique des populations de glossines. Cas de *Glossina palpalis* en Afrique de l'Ouest. Université Montpellier II, Montpellier.

76. SOLANO P., MICHEL J. F., LEFRANÇOIS T., DE LA ROCQUE S., SIDIBE I., ZOUNGRANA A., CUISANCE D., 1999.

Polymerase Chain reaction as a diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Veterinary Parasitology* **(86)**: 95-103.

77. SOLANO P. et DE LA ROCQUE S., 1999.

"Intraspecific variability in natural populations of *Glossina palpalis gambiensis* from West Africa, revealed by genetic and morphometric analyses." *Med Vet Entomol* **13**(4): 401-7.

78. SOLANO P., DE LA ROCQUE S., DE MEEUS T., CUNY G., DUVALLET G., CUISANCE D., 2000.

Microsatellite DNA markers reveal genetic differentiation among populations of *Glossina palpalis gambiensis* in the agropastoral zone of Sideradougou, Burkina Faso. *Insect Molecular Biology* **9** (4): 433-439.

79. SWALLOW B., 1998.

PAAT position paper: Impact of trypanosomiasis on African agriculture. FAO-OMS-IAEA-OAU/IBAR, Rome

80. TERRIBLE M. P. B., 1983.

Premier contact avec les végétaux compatibles avec la présence de glossines en Haute-Volta. F.A.O./O.U.A./O.M.S.

81. TOURE S. M. et MORTELMANS J., 1991.

Impact de la Trypanosomose Animale Africaine. *Bull. Séanc. Acad. r. Sci. Outre-Mer.* **36** (1990-2) : 257p

82. TRONCY P.M., ITARD J., MOREL P.C., 1981.

Précis de parasitologie vétérinaire tropicale.

83. VALE G. A. et TORR S. J., 2005.

User-friendly models of the costs and efficacy of tsetse control: application to sterilizing and insecticidal techniques. *Medical and Veterinary Entomology* (19): 293-305.

84. VREYSEN M. J. B., SALEH K. M., ALI M. Y., ABDULLA A. M., ZHU Z.-R., JUMA K. G., DYCK V. A., MSANGI A. R., MKONYI P. A., FELDMANN H. U., 2000.

Glossina austeni (Diptera: Glossinidae) Eradicated on the Island of Unguja, Zanzibar, Using the Sterile Insect Technique. *Journal of Economical Entomology* (93): 123-135.

85. WALSH P. S., METZGER D. A., HIGUCHI R., 1991.

Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* (10): 506-513.

86. WATSON J. D., 1978.

Biologie moléculaire du gene 3ème edit. Paris ; Inter-Edition 208-209.

87. WEIR, B. S. et C. C. COCKERHAM. 1984.

Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution* (38): 1358-1370.

88. WRIGHT S., 1951.

The general structure of populations. *Ann. Eugenica* (15): 323 - 354.

89. ZIEMANN H., 1905.

Beitragzur Trypanosomenfrage. *Cbl. Bakt. (I. Abt.)*. (38): 307 – 429

WEBOGRAPHIE

90. DUVALLET G., 2006.

Maladie du sommeil : terrible fléau pour l’Afrique.

Accès internet <http://www.futura-sciences.com/comprendre/d/dossier664-1.php> (page consultée le 14 novembre 2008)

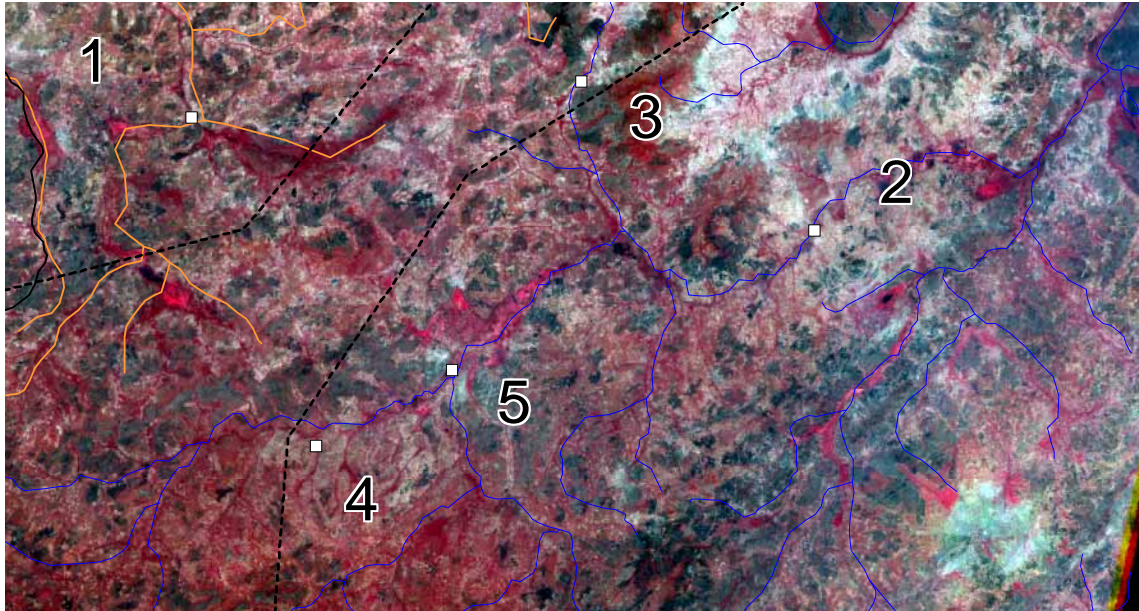
91. DUJARDIN J. P., 2005.

Morphometrics in medical entomology.

Accès internet: <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics/> (page consultée le 14 novembre 2008)

ANNEXES

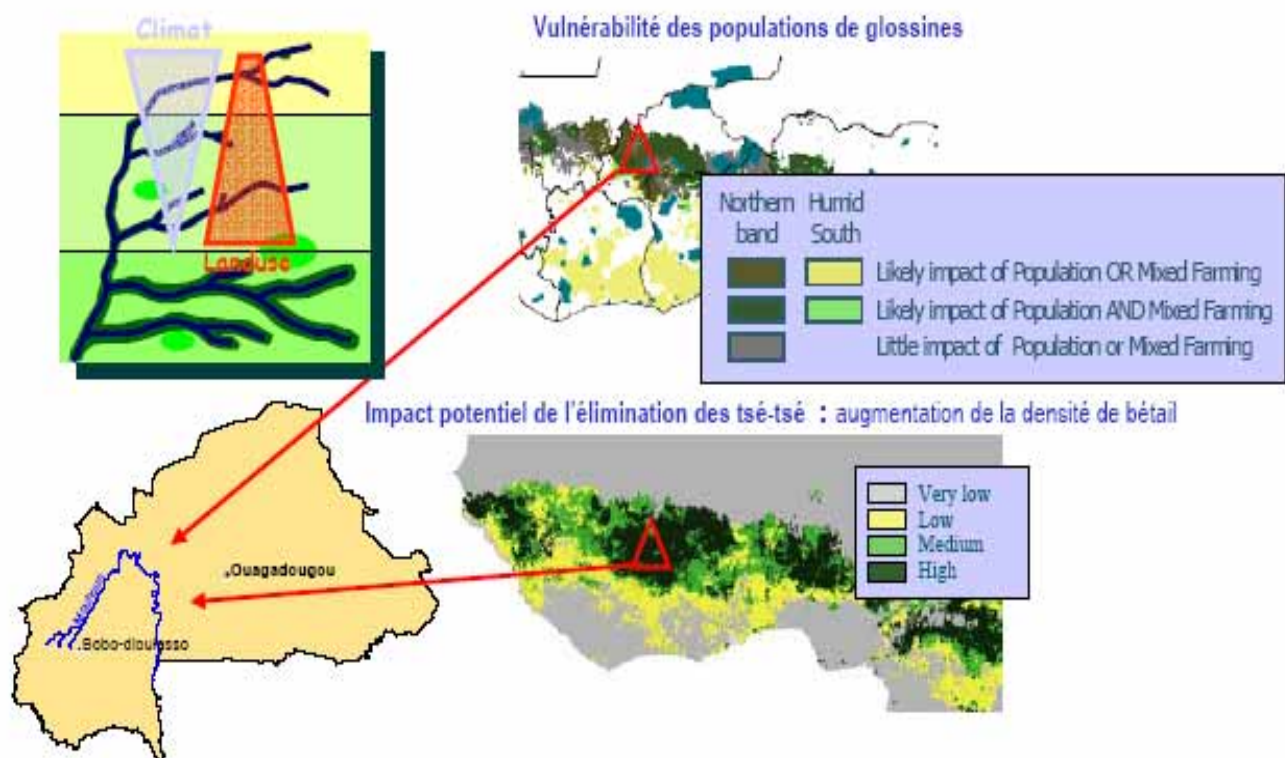
ANNEXES



Landsat 7 ETM Dec 2000

Composition colorée (canaux 4/3/2)

Annexe 1: image satellite de la zone d'étude



Triangle cotonnier = Zone prioritaire pour les politiques de développement (FAO/OMS/OUA)

Annexe 2 : Localisation de la boucle du Mouhoun dans le triangle cotonnier Ouest-Africain, zone d'intervention prioritaire contre les trypanosomoses animales africaines, (**Source : HENDRICKX, 2001**)

Annexe 3

PLAN PLAQUE REARRANGEMENT LICOR

Plan plaquePCR Licor

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	1	2	3	4	5	41	42	43	44	45	X
B	X	6	7	8	9	10	46	47	48	49	50	X
C	X	11	12	13	14	15	51	52	53	54	55	X
D	X	16	17	18	19	20	56	57	58	59	60	X
E	X	21	22	23	24	25	61	62	63	64	65	X
F	X	26	27	28	29	30	66	67	68	69	70	X
G	X	31	32	33	34	35	71	72	73	74	75	X
H	X	36	37	38	39	40	76	77	78	79	H2o	X

1 à 79 : 10µL de surnageant chelex dilué 5X +10µL premix

H2O = 10µL H2O + 10µL premix

Annexe 3 : Plan de plaque PCR Licor

