

# UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

\*\*\*\*\*

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



ANNEE 2014

N° 03

### ETUDE DE LA PREVALENCE DE *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp* AU SEIN DES COMMUNAUTES D'HOTES DE TROIS SITES DE CONSERVATION DE PRIMATES NON HUMAINS AU GABON

#### THESE

Présentée et soutenue publiquement le **31 Janvier 2014 à 11 heures**  
devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de  
Dakar pour obtenir le grade de **DOCTEUR VETERINAIRE (Diplôme D'Etat)** Par :

**Bertony Vaky OTORO**  
Né le 15 Octobre 1987 à Oyem (Gabon)

#### JURY

<b>Président :</b>	<b>M. Emmanuel BASSENE</b> Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar
<b>Rapporteur de Thèse :</b>	<b>M. Louis Joseph PANGUI</b> Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
<b>Membres :</b>	<b>M. Yalacé Yamba KABORET</b> Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar  <b>M. Serge Niangoran BAKOU</b> Maître de Conférences Agrégé à l'EISMV de Dakar
<b>Directeur de Thèse :</b>	<b>M. Oubri Bassa GBATI</b> Maitre-Assistant à l'E.I.S.M.V de Dakar
<b>Co-directeur de Thèse :</b>	<b>M. Barthelemy NGOUBANGOYE</b> Vétérinaire, Chef du Centre de Primatologie du CIRMF



# **ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES DE DAKAR**

**BP: 5077-DAKAR (Sénégal)**

**Tel: (00221) 33 865 10 08 Télécopie (221) 825 42 83**

---

**COMITE DE DIRECTION**

---

**LE DIRECTEUR GENERAL**

⌘ **Professeur Louis Joseph PANGUI**

**LES COORDONNATEURS**

⌘ **Professeur Germain Jérôme SAWADOGO**

Coordonnateur des Stages et des  
Formations Post-Universitaires

⌘ **Professeur Yalacé Yamba KABORET**

Coordonnateur de la Coopération Internationale

⌘ **Professeur Serge Niangoran BAKOU**

Coordonnateur des Etudes et de la Vie Estudiantine

⌘ **Professeur Yaghoub KANE**

Coordonnateur de la Recherche/Développement

***Année Universitaire 2013 – 2014***

# **PERSONNEL ENSEIGNANT**

- ❖ PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'E.I.S.M.V
  
- ❖ PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)
  
- ❖ PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV

# PERSONNEL ENSEIGNANT-EISMV

## **A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS ANIMALES**

**CHEF DE DEPARTEMENT** : Papa El Hassane DIOP, Professeur

### **SERVICES**

#### **1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE**

Serge Niangoran BAKOU	Maître de conférences agrégé
Gualbert Simon NTEME ELLA	Maître-Assistant
M. Jean Narcisse KOUAKOU	Vacataire
Mlle. Ghislaine MBEURNODJI	Monitrice

#### **2. CHIRURGIE –REPRODUCTION**

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Maître - Assistant
Salifou KABORE	Moniteur

#### **3. ECONOMIE RURALE ET GESTION**

Cheikh LY	Professeur(en disponibilité)
M. Walter OSSEBI	Assistant
Mlle. Carole NYONSE	Monitrice

#### **4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE**

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Maître – Assistant

#### **5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Adama SOW	Maître-Assistant
Zounongo Marcelin ZABRE	Vacataire

#### **6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION**

Ayao MISSOHOU	Professeur
Simplice AYSSIWEDE	Maitre - Assistant
M. Bekpable BANGUE LAMBONI	Moniteur

## **B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT**

**CHEF DE DEPARTEMENT** : Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur

### **SERVICES**

#### **1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)**

Serigne Khalifa Babacar SYLLA	Maître - Assistant
Bellancille MUSABYEMARIYA	Maître - Assistante

#### **2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE**

Rianatou BADA ALAMBEDJI	Professeur
Philippe KONE	Maître - Assistant

#### **3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE**

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Maître - Assistant
M. Jean Nepomusene HAKIZIMANA	Moniteur

#### **4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE- CLINIQUE AMBULANTE**

YalacéYamba KABORET	Professeur
Yaghoub KANE	Maître de conférences agrégé
Mireille KADJA WONOU	Maître – Assistante
Abdourahmane SECK	Moniteur
Mr Omar FALL	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Alpha SOW	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Abdoulaye SOW	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Ibrahima WADE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire

#### **5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE**

Assiongbon TEKOU AGBO	Chargé de recherche
Dr Gilbert Komlan AKODA	Maître - Assistant
Abdou Moumouni ASSOUMY	Assistant
M. Arnaud TALNAN	Vacataire

## **C. DEPARTEMENT COMMUNICATION**

**CHEF DE DEPARTEMENT** : Professeur Yalacé Yamba KABORET

### **SERVICES**

#### **1. BIBLIOTHEQUE**

Mme Mariam DIOUF

Ingénieur Documentaliste (Vacataire)

#### **2. SERVICE AUDIO-VISUEL**

Bouré SARR

Technicien

#### **3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE L'ÉLEVAGE (O.M.E.)**

#### **D. SCOLARITE**

M. Théophraste LAFIA

Chef de la scolarité

M. Mohamed Makhtar NDIAYE

Stagiaire

Mlle Astou BATHILY

Stagiaire

## **PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)**

### **1. BIOPHYSIQUE**

Boucar NDONG

Assistant  
Faculté de Médecine, de  
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie  
UCAD

### **2. BOTANIQUE**

Dr Kandioura NOBA

Dr César BASSENE

Maître de Conférences (Cours)  
Assistant (TP)  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

### **3. AGRO-PEDOLOGIE**

Fary DIOME

Maître-assistant  
Institut de Science de la Terre (I.S.T.)

### **4. ZOOTECHNIE**

Abdoulaye DIENG

Alpha SOW

El Hadji Mamadou DIOUF

Maître de conférences agrégé  
ENSA-THIES  
Docteur vétérinaire vacataire  
PASTAGRI  
Docteur vétérinaire vacataire  
SEDIMA

### **5. H. I. D. A. O. A.:**

Malang SEYDI

Professeur  
E.I.S.M.V – DAKAR

### **6. PHARMACIE-TOXICOLOGIE**

Amadou DIOUF

Professeur  
Faculté de Médecine, de Pharmacie  
et d'Odonto-Stomatologie UCAD

# PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV

## 1. MATHEMATIQUES

Abdoulaye MBAYE

Assistant  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## 2. PHYSIQUE

Amadou DIAO

Assistant  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

### Travaux Pratiques

Oumar NIASS

Assistant  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## 3. CHIMIE ORGANIQUE

Aboubacary SENE

Maître - Assistant  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## 4. CHIMIE PHYSIQUE

Abdoulaye DIOP

Mame Diatou GAYE SEYE

Maître de Conférences  
Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

### Travaux Pratiques de CHIMIE

Assiongbon TECKO AGBO

Assistant  
EISMV – DAKAR

Travaux Dirigés de CHIMIE

Momar NDIAYE

Maître - Assistant  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## 5. BIOLOGIE VEGETALE

Dr Aboubacry KANE

Dr Ngansomana BA

Maître - Assistant (Cours)  
Assistant Vacataire (TP)  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD



## **6. BIOLOGIE CELLULAIRE**

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé  
EISMV – DAKAR

## **7. EMBRYOLOGIE ET ZOOLOGIE**

Malick FALL

Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## **8. PHYSIOLOGIE ANIMALE**

Moussa ASSANE

Professeur  
EISMV – DAKAR

## **9. ANATOMIE COMPAREE DES VERTEBRES**

Cheikh Tidiane BA

Professeur  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## **10. BIOLOGIE ANIMALE (Travaux Pratiques)**

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé  
EISMV – DAKAR

Oubri Bassa GBATI

Maître - Assistant  
EISMV – DAKAR

Gualbert Simon NTEME ELLA

Maître-Assistant  
EISMV – DAKAR

## **11. GEOLOGIE : FORMATIONS SEDIMENTAIRES**

Raphaël SARR

Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques  
UCAD

## **HYDROGEOLOGIE**

Abdoulaye FAYE

Maître de Conférences  
Faculté des Sciences et Techniques

## DEDICACES

**A L'ETERNELDIEUTOUTPUISSANT.** Merci Seigneur pour la santé, la force, le soutien et les grâces innombrables que Tu m'accordes tous les jours.

A la mémoire de mon petit frère **MABIALA Ralph Vacky**, rien ne pourra effacer ce jour où tu es parti, repose en paix.

**A ma Mère Clarisse ANDEME MBEGHA**, grace à toi je suis devenu l'homme que je suis aujourd'hui, malgré les difficultés j'ai jamais été aussi heureux qu'à tes côtés. Un jour tu m'as dit vas, j'ai terminé ma part, tu es un homme maintenant ; et depuis ce jour je me tiens debout tout seul. Rien ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour toi, puisse Dieu te donner longue vie. Merci pour tout Maman.

**A mon Papa Joseph MENDENE MBEGHA**, tu as toujours été là pour moi faisant même de moi ton fils bien aimé pour certains. La rigueur, la droiture, l'honnêteté morale et intellectuelle sont les qualités que tu as su inculquer en moi, tu es mon modèle et j'espère un jour devenir aussi sage que toi. Je t'aime papa.

**A ma Maman, Germaine AVOREBANG NGOU**, grace à toi je suis l'un de ces rares privilégiés qui peuvent se targuer d'avoir deux mamans. L'amour ne se décrète pas mais il vient du cœur et sans rien demander en retour tu as fait de moi ton fils. Sincères remerciements. Je t'aime.

**A ma Grand-mère MBAZOGHO BIBANG**, tu es ma préférée de toutes !

**A mon père MOUSSAVOU MABIALA Dieudonné**, la vie nous a séparés à la naissance et après toutes ces années passées loin de l'autre tu as essayé d'être présent dans ma vie, merci pour tout le soutien apporté durant ces dernières années.

**A mes Petits frères et sœurs : Patrick, Gareth, Viala, Levy, Reine, Chrismaine, Roukia, Naelle, Janylla et Jules-Christ.** J'espère avoir été un grand frère digne de vous. Soyez rassurés je serai toujours là pour vous.

**A mes oncles et tantes , Tonton MBA, BERTHELOT, Na'a ANDEME, Jean Paul et Celestine** vous m'avez toujours encouragé, je vous serai éternellement reconnaissant, sincères remerciements.

A tous les frères que la vie m'a donné, **UTAKA, PARFAIT, LEVY, THIERRY, STAHEL, YVHI, MARCUS, JULIAN et BERTRAND**, vous êtes ceux en qui en dehors de ma famille je confierai ma vie.

**A la communauté Gabonaise de l'EISMV : mon bon petit AMY, LEYOGHO, AWORET et STEPHANIE**

**A mes amis pour la vie : MAZRA, Dr. THIOR, Dr. KAIRE, Dr. KONAN, Dr.GAYE, DALY, Dr. KEITA. Dr. DAHOUROU, Dr. ARAITA, HAMED HACHI, ALIMA, Dr. TALNAN, Dr. YOUGBARE, Dr OUEDRAOGO.**

**A mes amis de l'EISMV :, Martial, Ahmeth Fall, Babacar, Tafsir, Souahibou.**

**A la 40<sup>ème</sup> promotion de l'EISMV. Baptisée : Promotion Bassirou BONFOH**

**Au parrain de la la 40<sup>ème</sup> promotion de l'EISMV. Professeur Bassirou BONFOH**

**Au professeur accompagnateur de la 40<sup>ème</sup> promotion de l'EISMV, Pr.Serge N. BAKOU**

**A ma chère patrie le Gabon**

**Au SENEGAL mon pays hôte**

## REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements :

**Au Directeur Général de l'EISMV de Dakar**, Professeur Joseph Louis PANGUI

**A notre Co-directeur de thèse**, Docteur Barthelemy NGOUBANGOYE pour avoir initié et encadré avec rigueur ce travail. Profonde gratitude.

**A notre Directeur de thèse**, Docteur Oubri Bassa GBATI, pour avoir dirigé ce travail

**Au Professeur** Serge Niangoran BAKOU pour sa disponibilité.

**Au parrain de la 40<sup>ème</sup> promotion de l'EISMV**. Professeur Bassirou BONFOH

**A notre professeur accompagnateur Pr Serge N.BAKOU**, Hommage respectueux

**A tous nos maîtres de l'EISMV de Dakar**, pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont si généreusement dispensé.

**Docteur HERBERT**, pour votre participation très active à la réalisation de ce travail.

**A toute l'équipe du Centre de Primatologie du CIRMF**, en particulier, à mon petit Khaled, au petit batéké et au grand Aleki. Mes sincères reconnaissances.

**A Madame DIOUF**, Responsable de la bibliothèque de l'EISMV.

**A tout le personnel administratif et technique de l'EISMV**.

**A toute ma famille** présente au Gabon, à Oyem

**A tout mes amis du CIRMF**, Syr, Karl, BT, Bithegue, Michelle, Illich, Rodrigue, Merci pour tout le soutien.

**A tous ceux**, au Gabon comme à Dakar, ont soutenu ce travail.

## **A NOS MAITRES ET JUGES**

**A notre Président de jury de Thèse,**

**Monsieur Emmanuel BASSENE, Professeur à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie**

Vous nous faites l'insigne honneur en acceptant sans hésiter de présider notre jury de thèse malgré votre calendrier très chargé.

Votre rigueur scientifique, votre amour du travail bien fait et le sens des relations humaines sont vos qualités qui nous ont marqué.

Qu'il nous soit permis de vous adresser à cette occasion toute notre profonde gratitude.

Hommage respectueux.

**A notre Maître, et Rapporteur de thèse**

**Louis Joseph PANGUI, professeur à l'EISMV DE Dakar**

En acceptant de rapporter ce travail, vous nous faites un grand honneur. C'est l'occasion pour nous de vous exprimer toute notre reconnaissance, pour le savoir reçu de vous. Sincères remerciements.

**A notre Maître et juge,**

**Monsieur Yalacet Yamba KABORET, Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar**

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans notre jury de thèse nous honore. Veuillez recevoir cher Maître l'expression de notre profonde gratitude.

**A notre Maître et juge,**

**Monsieur Serge Niagoran BAKOU, Maître de conférence agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar**

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans notre jury de thèse nous honore. Nous avons été séduits dès nos premiers pas à l'EISMV de Dakar, par la qualité de vos cours, votre adresse de communication et vos qualités humaines veuillez recevoir cher Maître l'expression de notre profonde gratitude.

**A notre directeur de thèse,  
Monsieur Oubri Bassa GBATI, Maître-Assistant à l'EISMV de Dakar**

Vous nous avez inspiré, aidé, et encouragé dans notre travail. Les moments passés ensemble nous ont permis de découvrir en vous l'exemple même de la bienveillance et de l'amour pour le travail bien fait. Vos conseils nous ont servi et continueront toujours à nous orienter.

Veillez trouver ici l'assurance de notre sincère reconnaissance et de notre profonde admiration. Hommages respectueux.

« Par délibération la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie et l'Ecole Inter-Etats des sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent donner aucune approbation ni improbation »

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- ANPN** : Agence Nationale des Parcs Nationaux
- al.** : Collaborateurs
- CDC** : Center for Diseases Control
- CNER** : Comité Nationale d’Ethique de la Recherche du Gabon
- CIRMF** : Centre International de Recherches Médicales de Franceville
- CDP** : Centre De Primatologie
- EDTA** : Acide éthylène-diamine tétra acétique
- ELISA** : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
- FAO** : Food and Agriculture Organisation
- GPS** : Global Position System
- ITS1** : Internal transcribed spacer 1 (Espaceur transcrit interne 1)
- ITS2** : Internal transcribed spacer 2 (Espaceur transcrit interne 2)
- PNPB** : Parc National des Plateaux Batéké
- PPG** : Programme de Protection des Gorilles
- PCR** : Polymerase Chain Reaction
- PNH** : Primates Non Humains
- QBC** : Quantitative Buffy Coat
- SGA** : Single Genome Amplification
- TAE** : Tris, Acétate, EDTA
- THA** : Trypanosomose Humaine Africaine



## TABLE DES ILLUSTRATIONS

<b>Figure 1:</b> Phylogénie des <i>Plasmodium</i> des Primates non humains (PNH) et de l'Homme (Duval et Arieu, 2012).....	5
<b>Figure 2:</b> Représentation schématique de la section d'un mérozoïte de <i>P. falciparum</i> (Langreth, 1978). .....	6
<b>Figure 3:</b> Les régions atteintes du paludisme (OMS, 2010) .....	7
<b>Figure 4:</b> Cycle de reproduction de <i>plasmodium</i> sp .....	8
<b>Figure 5:</b> Gamétocytes de <i>Plasmodium falciparum</i> et <i>plasmodium malariae</i> dans le sang humain sur frottis.....	10
<b>Figure 6:</b> <i>Plasmodium</i> à divers stades. Aspect sur frottis mince (www.dpd.cdc.gov) 11	
<b>Figure 7:</b> Taxonomie des trypanosomes des mammifères (Hoare, 1972).....	17
<b>Figure 8 :</b> Schéma de l'ultrastructure des trypanosomes révélée par microscopie électronique (Vickerman, 1970). .....	18
<b>Figure 9 :</b> Répartition géographique de la maladie du sommeil en Afrique (FAO, 1994) .....	20
<b>Figure 10 :</b> Cycle évolutif des trypanosomes (Vickerman, 1985).....	23
<b>Figure 11 :</b> Formes trypomastigotes sanguines de <i>T. b. rhodesiense</i> sur un frottis sanguin mince périphérique (Jannin, 2010).....	24
<b>Figure 12 :</b> Localisation des sites d'étude dans la province du Haut-Ogooué .....	32
<b>Figure 13 :</b> Le Centre de Primatologie du CIRMF .....	33
<b>Figure 14 :</b> Primates non humains du CDP : a) : Chimpanzé, b) : Cercopithèques, c): Gorille, d) : Mandrill (Photo : CIRMF) .....	35
<b>Figure 15 :</b> <i>Lephuromys nudicaudus</i> et <i>Praomys</i> sp (Photo : Otoro) .....	36
<b>Figure 16 :</b> <i>Mastomys natalensis</i> (Photo : Otoro).....	36
<b>Figure 17 :</b> Matériel de capture et de géolocalisation (Photo : Otoro) .....	38
<b>Figure 18 :</b> Matériel d'extraction d'ADN (Photo : Otoro) .....	40
<b>Figure 19 :</b> Quadrillage de la zone de capture avec le logiciel MAPSOURCE (Source : Otoro).....	41
<b>Figure 20 :</b> Détermination des points de capture avec l'application GOOGLE EARTH (Source : Otoro) .....	42

<b>Figure 21</b> : Répartition des points de capture de rongeurs au Centre De Primatologie (Source : Otoro) .....	43
<b>Figure 22</b> : Prélèvement de sang sur un PNH (Photo : Otoro) .....	44
<b>Figure 23</b> : Prélèvement de sang sur un rongeur (Photo : Otoro).....	45
<b>Figure 24</b> : Résultat de PCR nichée PNH .....	51
<b>Figure 25</b> : Résultat PCR nichée PNH (2) .....	52
<b>Figure 26</b> : Résultat de PCR nichée de rongeurs .....	53
<b>Figure 27</b> : Résultat de PCR nichée hommes .....	53
<b>Figure 28</b> : Résultat PCR de confirmation des individus positifs aux différentes PCR réalisées.....	54
<b>Figure 29</b> : Résultat de PCR <i>Trypanosoma sp</i> .....	55
<b>Figure 30</b> : Variation de la prévalence de <i>Plasmodium sp</i> et <i>Trypanosoma sp</i> en fonction du site.....	58

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b> Formes atypiques de Trypanosomoses humaines répertoriées dans le monde (Truc et al., 2013). .....	29
<b>Tableau II :</b> Espèces plasmodiales chez les PNH rencontrés au Gabon .....	38
<b>Tableau III :</b> Prévalence générale de <i>Plasmodium sp</i> et <i>Trypanosoma sp</i> au sein des différentes populations d'étude. ....	55
<b>Tableau IV :</b> Prévalence de <i>Plasmodium sp</i> au sein des différentes populations d'étude du Centre de Primatologie .....	56
<b>Tableau V :</b> Prévalence de <i>Plasmodium sp</i> au parc de la Lekedi. ....	56
<b>Tableau VI :</b> Prévalence de <i>Plasmodium sp</i> au sein des différentes populations d'étude du Programme de Protection des Gorilles. ....	57

## SOMMAIRE

<i>Introduction</i> .....	1
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	4
<b>CHAPITRE I : Généralités sur les Plasmodium</b> .....	5
<b>I. Les Plasmodium</b> .....	5
I.1. Définition .....	5
I.2. Classification.....	5
I.3. Morphologie et structure :.....	6
I.4. Effets pathologiques des <i>Plasmodium</i> : le paludisme.....	6
I.4.1. Définition .....	6
I.4.2. Importance du paludisme.....	7
I.4.2.1. le paludisme humain.....	7
I.4.2.2. le paludisme simien .....	8
I.6. Techniques de diagnostic des <i>Plasmodium</i> .....	10
I.6.1. Examens parasitologiques.....	10
I.6.1.1. Frottis sanguin .....	10
I.6.1.2. Goutte épaisse : .....	11
I.6.2. Diagnostic sérologique .....	12
I.6.3. Culture des <i>Plasmodium</i> .....	12
I.6.4. Diagnostic moléculaire .....	12
<b>II. Plasmodiums et les communautés d'hôtes</b> .....	13
II.1. <i>Plasmodium</i> et Primates Non Humains .....	13
II.2. <i>Plasmodium</i> et rongeurs.....	15
II.3. <i>Plasmodium</i> et humains .....	15
<b>CHAPITRE II : Généralités sur les trypanosomes</b> .....	16
<b>I. Les trypanosomes</b> .....	16
I.1. Définition.....	16
I.2. Classification .....	16
I.4. Les hôtes .....	18
I.4.1. Hôtes intermédiaires .....	18

I.4.2. Hôtes définitifs .....	19
I.5. Effets pathologiques des trypanosomes : les trypanosomoses .....	19
I.5.1. Définition .....	19
I.5.2. Importance .....	19
I.5.2.1. La trypanosomose humaine africaine (THA).....	19
I.5.2.2. Les trypanosomoses animales .....	20
I.6. Biologie des trypanosomes.....	21
I.6.1. Reproduction.....	21
I.6.2. Cycle biologique .....	21
I.7. Diagnostic des trypanosomoses .....	23
I.7.1. Examens parasitologiques.....	23
I.7.1.1. Observations directes .....	24
I.7.1.2. Observations après centrifugation : .....	25
I.7.2. Culture des Trypanosomes.....	25
I.7.3. Diagnostic moléculaire .....	26
<b>II. Trypanosomes et les communautés d'hôtes.....</b>	<b>26</b>
II.1. Trypanosomes et primates non humains .....	27
II.2. Trypanosomes et rongeurs.....	27
II.3. Trypanosomes et humains .....	27
II.4. Transmission interspécifique.....	29
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>31</b>
<b>Chapitre I : Matériel et Méthodes .....</b>	<b>32</b>
<b>I. Présentation du cadre d'étude.....</b>	<b>32</b>
I.1. Le CIRMF et son Centre de Primatologie.....	32
I.2. Le Programme de Protection des Gorilles.....	34
I.3. Le Parc de la LEKIEDI .....	34
<b>II. Matériel .....</b>	<b>35</b>
II.1. Communauté d'hôtes.....	35
II.1.1. Les Primates NH.....	35
II.1.2. Les rongeurs .....	36
II.1.3. Les humains .....	37
II.2. Communauté de pathogènes .....	37
II.3. Matériel de capture et de localisation .....	38
II.5. Matériel de laboratoire .....	39

<b>III. Méthodologie</b> .....	40
III.1. Sur le terrain.....	40
III.1.1. Détermination des coordonnées des points de capture de rongeurs.....	40
III.1.2. Capture des rongeurs.....	43
III.1.3. Capture des primates non humains.....	44
III.2. Au Laboratoire.....	44
III.2.1. Prélèvement sanguin.....	44
III.2.2. Diagnostic moléculaire.....	45
III.2.2.1. Diagnostic de <i>Plasmodium sp</i> .....	46
III.2.2.1.1 Amplification de l'ADN par PCR nichée.....	46
III.2.2.1.1.1. PCR nichée sur le gène cytochrome B.....	47
III.2.2.1.1.2. Migration des produits de PCR sur gel d'agarose.....	48
III.2.2.2. Diagnostic de <i>Trypanosoma sp</i> .....	49
III.2.2.2.1. PCR à temps réel ciblant la région ITS1.....	49
III.2.2.2.2. Migration des produits de PCR sur gel d'agarose.....	50
III.3. Analyses statistiques.....	50
<b>Chapitre II : Résultats et Discussion</b> .....	51
<b>I. Résultats</b> .....	51
I.1. Sur le terrain.....	51
I.2. Au laboratoire.....	51
I.2.1. Sur l'ensemble de sites.....	51
I.2.1.1. Recherche de <i>Plasmodium sp</i> chez les Primates Non Humain:.....	51
I.2.2. Recherche de <i>Plasmodium sp</i> chez les rongeurs.....	52
I.2.3. Recherche de <i>Plasmodium</i> dans la population humaine.....	53
I.3. PCR <i>Trypanosoma</i> .....	54
I.4. Par site d'étude.....	56
<b>II. Discussion</b> .....	59
II.1. Echantillonnage.....	59
II.2. Le laboratoire.....	61
II.3. Les résultats.....	61
<b>Conclusion</b> .....	66
<b>Références Bibliographiques :</b> .....	69
<b>ANNEXES</b> .....	i

## **Introduction**

Les maladies infectieuses émergentes, alimentées par les activités anthropiques, constituent une grave menace pour la santé mondiale et la conservation de la biodiversité (**Daszak et al., 2000 ; Cleaveland et al., 2001**). La relation phylogénétique proche entre l'Homme et les primates non humains (PNH), couplée avec l'expansion exponentielle des populations et des activités humaines dans les habitats des primates, a donné lieu à un potentiel exceptionnel pour l'échange d'agents pathogènes (**Gillespie et al., 2008**). Près de 60% des maladies induites par ces agents sont des zoonoses et environ 70% d'entre elles proviennent de la faune sauvage (**Jones et al., 2008**).

Classé comme un pionnier africain de l'économie verte par l'université américaine de Yale en 2012 à travers un classement dénommé « Indice de performance environnementale » (**epi.yale.edu, 2012**), le Gabon est un pays de climat chaud et humide, doté d'une faune et une flore importante qui a justifié en 2002, à l'initiative de feu Président Omar BONGO ONDIMBA, la création d'un réseau de 13 Parcs Nationaux, soit 10,66 % de son territoire (**ANPN, 2008**). Ainsi le pays vise via la conservation, le développement de l'écotourisme basé sur une gestion durable de ses écosystèmes.

Du fait de cette proximité génétique, il résulte que le développement d'une activité telle l'écotourisme, dont la composante clé repose sur la rencontre Homme-Animal augmente de façon certaine les contacts entre l'homme et la faune sauvage et en théorie un risque plus important d'échange de pathogènes. D'où la nécessité de prendre en compte les questions liées au risque infectieux, à la circulation des pathogènes et à l'adaptation évolutive des parasites dans les programmes de conservation et de développement des aires protégées. En outre, la transmission de parasites d'une espèce à une autre peut parfois, s'accompagner d'une modification d'expression. C'est ainsi que *Plasmodium knowlesi*, naturellement asymptomatique chez les macaques est désormais connu comme parasite pathogène responsable du paludisme chez l'homme en Asie (**Antinori et al., 2012**). La limitation de telles transmissions serait bénéfique pour la santé humaine et animale. A ce titre, les

primates non humains (PNH) font depuis longtemps l'objet d'une surveillance pour des zoonoses potentielles, telles que la fièvre jaune, la schistosomiase...(Coatney, 1971;Ghandouret al., 1995).C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail, qui traite de la problématique générale des risques sanitaires liés à l'interface homme et animale dans les sanctuaires et aires protégés. L'objectif ultime étant de proposer une base de référence pour les schémas d'infection dans les populations sauvages.

Dans cette optique, nous nous proposons dans ce cas précis de procéder à l'étude de deux hémoparasites (*Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp*) au sein des communautés d'hôtes de trois sites de conservation (Centre De Primatologie du CIRMF, Programme de Protection des Gorilles et le parc de la LEKIEDI) de PNH dans la province du Haut-Ogooué au Gabon.

Le choix de *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp* découle de leur importance en milieu tropical ainsi que leurs modes d'infection similaires. Si l'étude des plasmodiums chez les animaux sauvages, principalement les primates non humains (PNH) a connu une avancée considérable à ce jour, très peu de recherches ont été menées sur les trypanosomes des animaux sauvages en général (Simo et al., 2000). Hormis les deux formes classiques de trypanosomoses humaines, à savoir la Trypanosomose Humaine Africaine (THA) en Afrique et la maladie de Chagas en Amérique, un certain nombre d'infections humaines atypiques causées par d'autres espèces de Trypanosomes (ou sous-espèces) ont été signalées, notamment dues à des espèces typiquement animales, témoignant ainsi du franchissement de la barrière d'espèce (Truc et al., 2013) ; de même des parasites du paludisme spécifiques aux chimpanzés et aux gorille sont été décrits, et sont si étroitement liés aux espèces humaines morphologiquement et au niveau moléculaire que des questions se posent quant à savoir si les *Plasmodium* des PNH et les parasites du paludisme humain ne sont pas des souches adaptées d'espèces identiques (Waters et al., 1993). Cette théorie est étayée par le fait que *P. schwetzi* parasite de chimpanzé peut expérimentalement infecter des humains et que *P. falciparum* induit une légère infection chez le chimpanzé (Coatney et al., 1971).

C'est pourquoi, pour prendre en compte cette problématique dans les programmes de conservation au Gabon, il a été mis en place au CIRMF un projet de santé publique



dont l'objectif principal vise à comprendre à travers l'étude de quelques modèles pathogènes, si les aires de protections favorisent les échanges inter espèces et si oui, quelles sont les incidences moléculaires liées au franchissement de la barrière inter espèces. Ainsi, le travail mené dans le cadre de cette thèse vétérinaire est une étude préliminaire de ce projet qui a pour objectif général de comprendre le sens de circulation et d'adaptation moléculaire de *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp* dans les populations des aires protégés ; et a pour objectifs spécifiques de :

- Déterminer la prévalence des modèles parasites par site d'étude et dans la population générale,
- Comparer au sein d'une même niche, les différences de prévalence au sein des populations cohabitantes,
- Déterminer si le site constitue un facteur de risque pour les infections à *Plasmodium* et *Trypanosoma*.

Pour conduire cette étude, nous avons organisé notre travail en deux grandes parties dont la synthèse bibliographique et la partie expérimentale qui s'articule en deux (2) phases dont une phase dite de terrain et une phase de laboratoire. La phase de terrain a consisté à la détermination des points de piégeages de rats à partir d'une carte géo référencée et à la récolte d'échantillons de rongeurs, de Primates Non Humains et de primates Humains. L'organisation de cet échantillonnage a été précédée d'une autorisation du comité nationale d'éthique de la recherche du Gabon (CNER) et les prélèvements humains ont été réalisés par le médecin du CIRMF. La deuxième phase de notre travail a consisté au diagnostic moléculaire (PCR) de *Plasmodium et Trypanosoma* dans nos différentes communautés d'hôtes. Il nous a permis d'établir les prévalences de chaque Pathogène dans nos populations. Ces deux principales parties sont suivies d'une analyse statistique qui nous permettra de répondre aux questions fixés dans nos objectifs spécifiques. Ces résultats seront par la suite discuté dans une sous partie qui débouchera sur une conclusion et formulation d'hypothèses qui seront confirmées ou infirmées avec l'aboutissement du projet global via des approches par séquençage et phylogénie.

**PREMIERE PARTIE :**  
**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE I : Généralités sur les *Plasmodium*

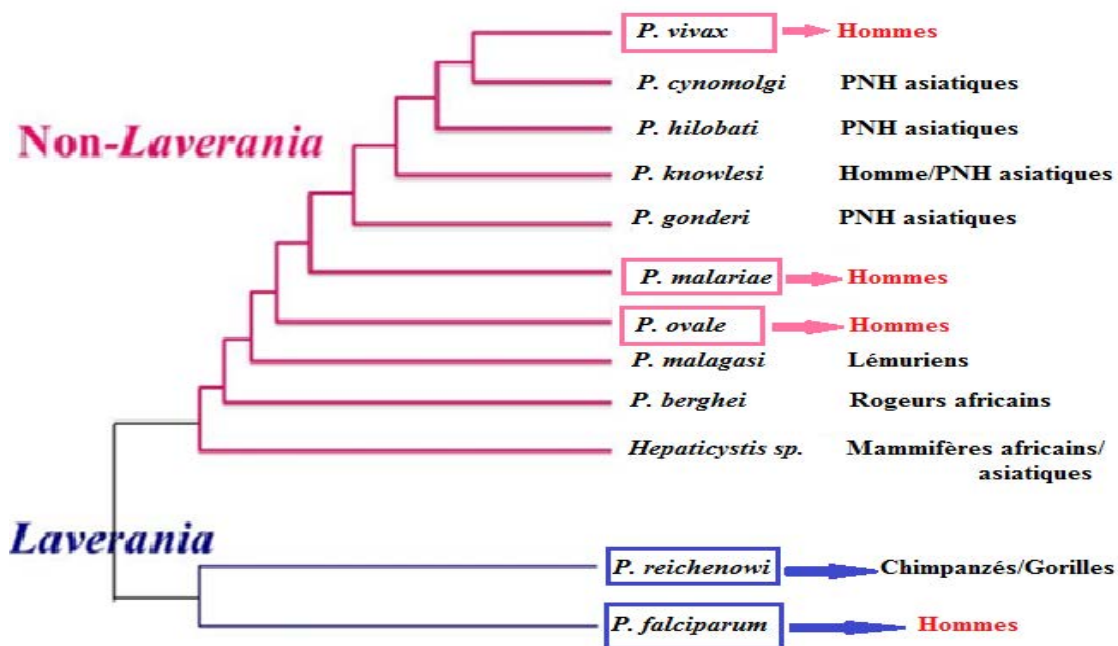
## I. Les *Plasmodium*

### I.1. Définition

Ce sont des parasites intracellulaires des globules rouges et des hépatocytes. La caractéristique principale des Apicomplexa est la présence d'un complexe apical. Ils ont tous deux hôtes : un hôte vertébré chez lequel se déroule la reproduction asexuée (**hôte intermédiaire**) et un insecte piqueur chez lequel se passe la reproduction sexuée (**hôte définitif**) (Langreth, 1978). L'insecte est, en même temps, responsable de la transmission (**vecteur**).

### I.2. Classification

Les *Plasmodium* sont des protozoaires de la classe des Sporozoaires et de l'ordre des Hémococcidies. Ils font partie du même embranchement que les coccidies, l'embranchement des Apicomplexa, mais à un groupe différent, celui des hémospories. Ce sont surtout des caractères morphologiques et des particularités du cycle biologique qui ont été utilisés comme critères taxonomiques dans la classification classique de Garnham (Langreth, 1978).

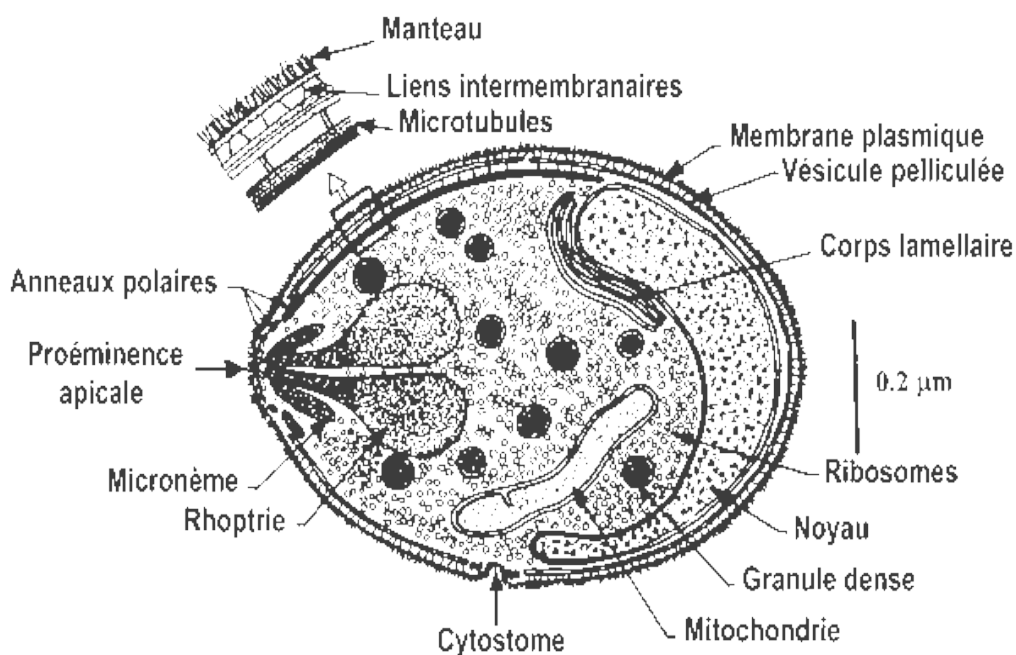


**Figure 1** : Phylogénie des *Plasmodium* des Primates non humains (PNH) et de l'Homme (Duval et Ariey, 2012).

Le genre *Plasmodium* est subdivisé en 10 sous-genres. Les parasites des humains et des primates sont tous soit du sous-genre *Plasmodium* (*Plasmodium*) soit du sous-genre *P. Laverania*, alors que toutes les autres espèces infectant les mammifères sont du sous-genre hétérogène *P. Vinckeia*.

### I.3. Morphologie et structure

Les *Plasmodium* ont des formes amiboïdes. Leurs dimensions varient entre 1 et 60  $\mu\text{m}$  selon le stade évolutif. Les grandes formes sont multinucléées et constituent de véritables plasmodes, d'où le nom *Plasmodium* (Langreth, 1978).



**Figure 2:** Représentation schématique de la section d'un mérozoïte de *P. falciparum* (Langreth, 1978).

### I.4. Effets pathologiques des *Plasmodium* : le paludisme

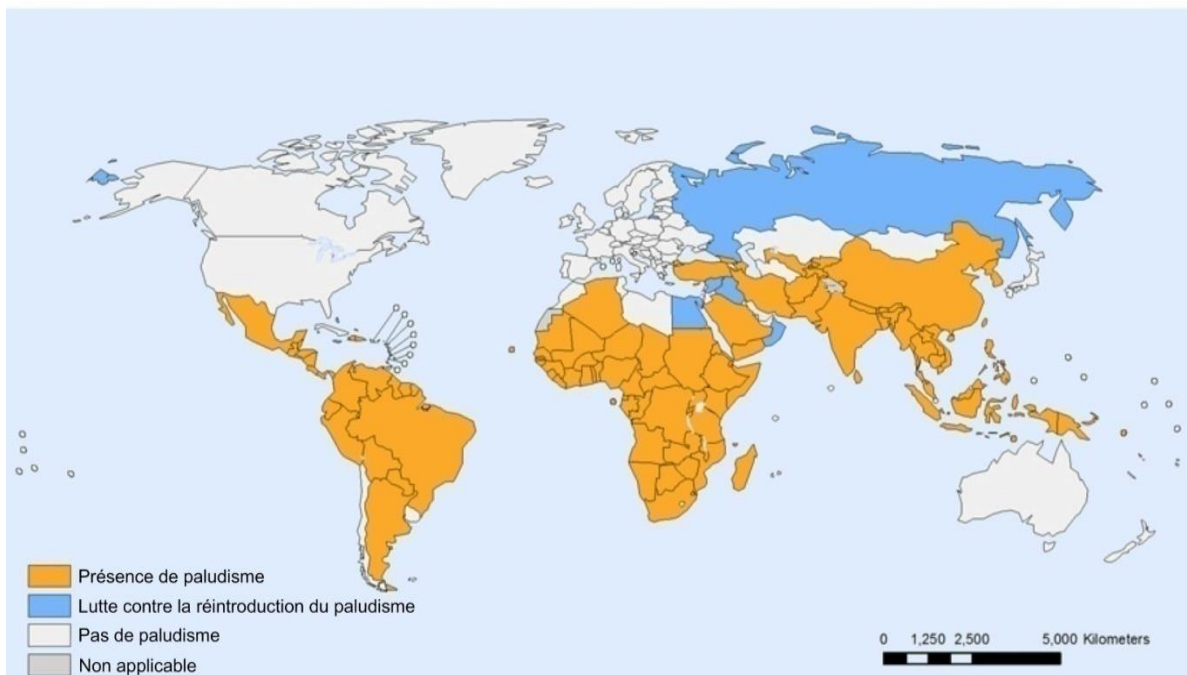
#### I.4.1. Définition

Encore appelée malaria, c'est une maladie parasitaire à transmission vectorielle qui est transmise à l'homme par la piqûre des moustiques femelles du genre *Anopheles* ; préalablement infectées chez l'homme ou chez un animal porteur du parasite pathogène pour l'homme (OMS). Il s'agit de la principale maladie parasitaire humaine.

## I.4.2. Importance du paludisme

Quatre espèces de *Plasmodium* sont responsables du paludisme chez l'homme ; à savoir *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae*. A ces espèces on peut désormais ajouter une cinquième ; *Plasmodium knowlesien* Asie (**Antinori et al., 2012**). Selon l'OMS, cette maladie cause aux alentours d'1 million de victimes par an dans le monde. Environ 40% de la population mondiale est exposée à la maladie et 500 millions de cas cliniques sont observés chaque année. La situation est d'autant plus préoccupante que depuis plusieurs années les parasites développent des résistances aux molécules antipaludiques et les moustiques craignent de moins en moins les insecticides. Aujourd'hui, aucun vaccin n'est disponible.

### I.4.2.1. Le paludisme humain



**Figure 3** : Les régions atteintes du paludisme (OMS, 2010)

Sur le plan clinique, chez l'homme, le paludisme induit des signes non spécifiques : fièvre d'apparition brutale (30 à 40°C), grand frisson, fatigue, courbatures, maux de tête, troubles digestifs (diarrhée, douleurs abdominales), surtout chez l'enfant (OMS).

### I.4.2.2. Le paludisme simien

Chez les PNH l'infection semble être asymptomatique ou non létale chez les chimpanzés sauvages (Culleton et al., 2008). Les signes de la maladie sont rarement observés car les animaux infectés masquent souvent la faiblesse à fin de maintenir leur position sociale et éviter les attaques par des prédateurs (Culleton et al., 2008). Les symptômes peuvent cependant être marqués dans certains cas, lors d'infection expérimentale par exemple. On observe dans ce cas de la fièvre, des anémies, des œdèmes pulmonaires et/ou cérébraux (Ozawara et al., 2003).

### I.5. Cycle de reproduction des *Plasmodium*

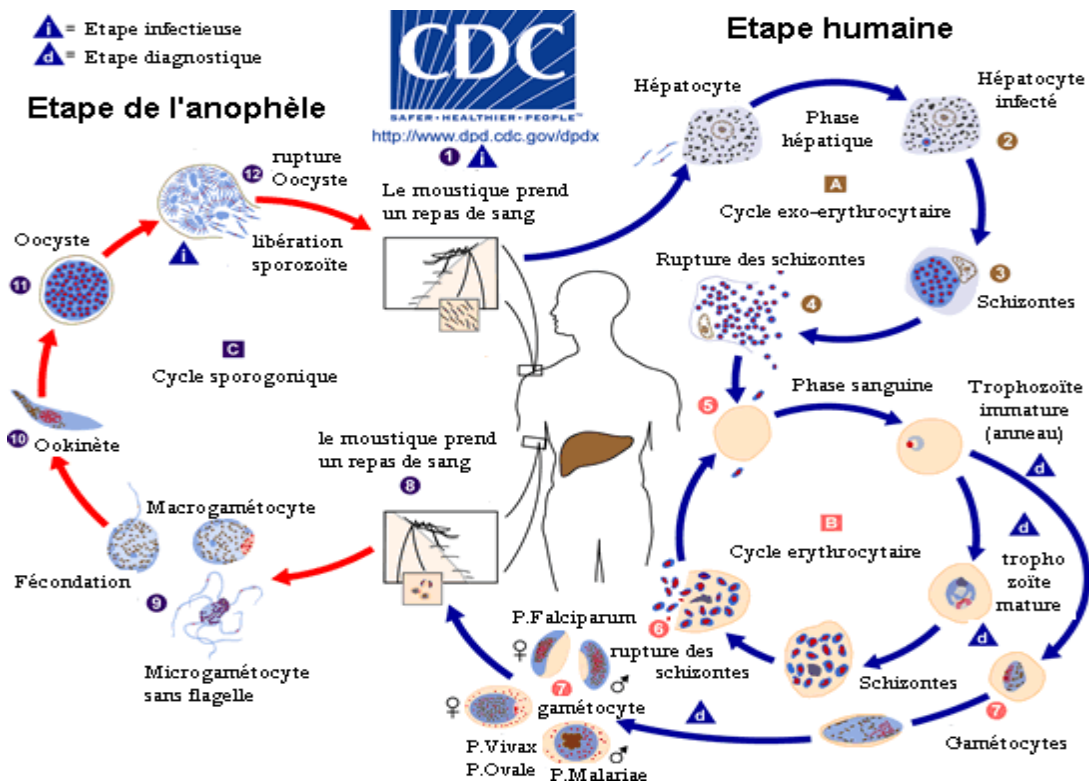


Figure 4 : Cycle de reproduction de *Plasmodium* sp

- **Chez les hôtes mammifères**

Lors de la piqûre du moustique, l'hôte est infecté par des sporozoïtes de *Plasmodium* initialement présents dans les glandes salivaires du moustique. Ceux-ci sont transportés par le sang et parviennent au foie : ils pénètrent dans les hépatocytes (1) et y effectuent une multiplication asexuée (2) qui dure 14 jours dans le cas de *P. falciparum* et qui aboutit à la production de dizaines de milliers de mérozoïtes (3) libérés lors de l'éclatement de l'hépatocyte. Cette phase est appelée exo-érythrocytaire. Le devenir des mérozoïtes est soit d'infecter à nouveau des hépatocytes (4), soit d'infecter des globules rouges (5). Il y a alors formation d'un schizonte à l'intérieur de l'hématie. Débute à nouveau une phase de multiplication asexuée (6) aboutissant à la libération de 16 schizozoïtes par éclatement de l'hématie. Cette phase érythrocytaire dure 48 heures chez *P. falciparum* et est responsable des fièvres rythmiques caractéristiques (dus à la libération d'antigènes et à une hémolyse). Cette phase est répétée de nombreuses fois (7).

- **Chez les vecteurs**

Certains de ces schizoïtes se différencient en gamétocytes mâles (9) et femelles (8), qui sont prélevés par les moustiques lors des piqûres. C'est une fois à l'intérieur de l'intestin du moustique que se déroule la reproduction sexuée. Les gamétocytes mâles subissent trois divisions successives pour donner 8 microgamètes flagellés (11). Ceux-ci fécondent les gamétocytes femelles (10) qui n'ont pas subi de changement et forment un zygote (12), mobile après quelques heures, appelé ookinète. Le zygote pénètre à l'intérieur des cellules du tube digestif et s'enkyste entre la lame basale et la membrane plasmique. Il se forme un oocyste dont la principale source de nutriments est l'hémolymphe. Après une phase de développement, l'oocyste se rompt (13) et libère des centaines de sporozoïtes qui pénètrent les glandes salivaires (14). Ils restent alors une soixantaine de jours dans une vacuole pour se développer. Ils seront ensuite injectés à l'homme lors d'une piqûre ultérieure (15). Il faudra alors moins de 45 minutes aux sporozoïtes pour gagner le foie et disparaître totalement de la circulation sanguine.

## I.6. Techniques de diagnostic des *Plasmodium*

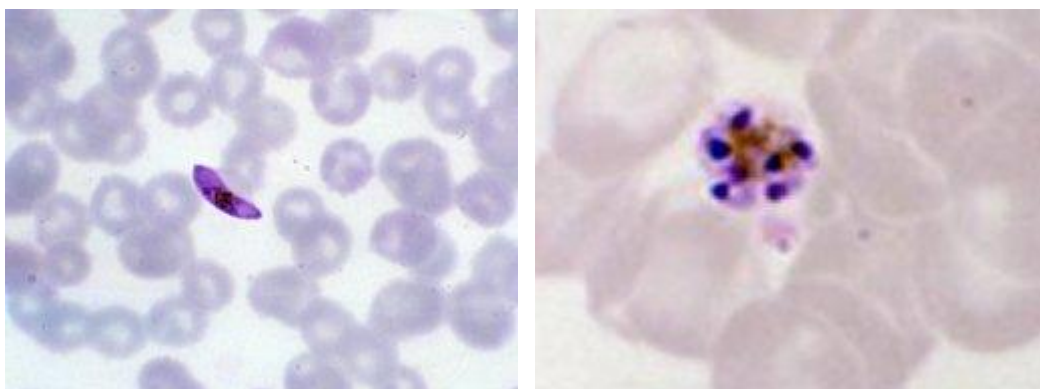
### I.6.1. Examens parasitologiques

Il permet d'établir un diagnostic d'espèce en ne nécessitant qu'un microscope optique et des colorants d'un coût modéré. La qualité du résultat dépend cependant beaucoup de l'expérience de la personne réalisant cet examen. Un rappel de la technique et des caractères de chaque espèce plasmodiale est essentiel.

#### I.6.1.1. Frottis sanguin

Le frottis mince permet de mettre en évidence tous les détails morphologiques du parasite et de l'hématie parasitée. Le prélèvement doit se faire par ponction veineuse avec prélèvement dans un tube contenant un anticoagulant (par exemple EDTA) et réalisation secondaire des lames d'examen. Le frottis doit être effectué avec soin de manière à ne comporter qu'une couche cellulaire. La coloration ne doit pas comporter de dépôts de colorants qui gêneraient considérablement la lecture des lames et pourraient être cause d'erreur.

Le frottis, après coloration au Giemsa, sera lu avec la plus grande attention, à l'immersion, pendant 30 minutes environ, avant de rendre un résultat négatif. Le fait de trouver un élément parasitaire ne justifie pas l'arrêt de la lecture de la lame, il peut en effet exister un polyparasitisme.



**Figure 5 :** Gamétocytes de *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium malariae* dans le sang humain sur frottis



### I.6.1.2. Goutte épaisse

La goutte épaisse permet un enrichissement important en parasites, mais la lecture est plus difficile. Les parasites apparaissent plus petits, leurs couleurs sont plus vives, les contours sont moins réguliers ; les parasites sont libérés des hématies et donc fragilisés. Elle présente un intérêt dans les faibles infestations. Il s'agit d'une technique de concentration utilisable également pour les recherches de trypanosomes et microfilaires.

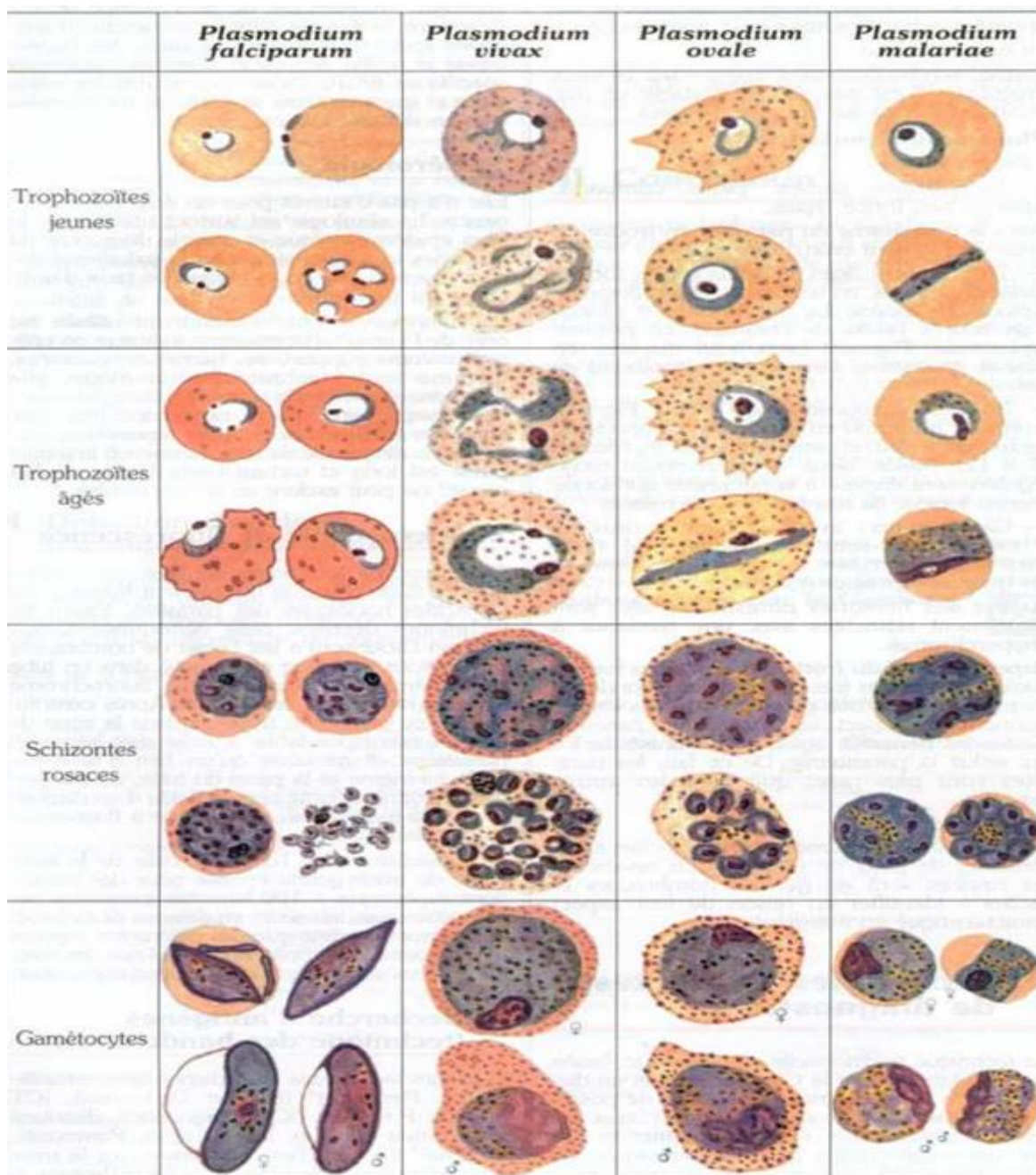


Figure 6 : *Plasmodium* à divers stades. Aspect sur frottis mince ([www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov))

### **I.6.2. Diagnostic sérologique**

Seule la réaction d'IFI est couramment employée. Toutes les réactions sont le témoin de l'infestation palustre mais ne mesurent pas l'immunité protectrice.

### **I.6.3. Culture des *Plasmodium***

Le comportement des *Plasmodium* humains en culture est connu depuis que **Bass. (1912)**, qui a décrit la méthode qui permet d'en suivre l'évolution en dehors du corps humain (**Rhodain, 1939**). Depuis, elle a subi une série de modifications portant sur le détail, mais le principe de la méthode reste toujours le même. Il consiste à maintenir les globules rouges parasités dans du sérum humain glucosé, de préférence inactivés par un chauffage d'au moins 30 minutes à 56°C et de placer le mélange en anaérobiose au moins partielle à la température de 37°-38°C (**Bass, 1912**). C'est cette technique qui a également été adapté pour la culture des plasmodiums de grands singes (**Rhodain, 1939**).

### **I.6.4. Diagnostic moléculaire**

L'évolution de la biologie moléculaire a permis l'élaboration de diverses méthodes d'amplification pour le diagnostic des plasmodiums. Dans le cadre de l'étude des *Plasmodium* des grands singes en général, la majorité des équipes ont utilisé la méthode d'amplification (PCR) conventionnelle pour détecter et caractériser les parasites du genre *Plasmodium* à partir de prélèvements sanguins et/ou de fèces (**Duval, 2012**). Les marqueurs moléculaires cibles utilisés pour le diagnostic moléculaire sont les gènes mitochondriaux. Le génome mitochondrial est composé de trois gènes, le cytochrome *b* (*cytb*), le cytochrome c oxydase I (*cox I*) et le cytochrome c oxydase III (*cox III*). Ces trois marqueurs sont conservés et présents en multi-copies ce qui confère une bonne sensibilité des techniques de diagnostic moléculaire. Le cytochrome *b*, est le marqueur mitochondrial, utilisé principalement (**Steenkste et al., 2009**). L'autre approche, est celle du « Single Genome Amplification (SGA) ». Cette méthode consiste en une dilution limite des ADN de façon à ne plus qu'avoir un seul génome parasite dans l'échantillon. Ensuite, la méthode d'amplification

conventionnelle est appliquée. Cette méthode est appliquée dans le but de réduire la formation de chimères (association de marqueurs moléculaires correspondant à deux parasites moléculairement divergents dans le cas d'infections mixtes). Toutefois, beaucoup de PCR sont nécessaires pour trouver la dilution optimale et cette technique plus onéreuse est moins utilisée (Duval, 2012).

## **II. *Plasmodium* et les communautés d'hôtes**

### **II.1. *Plasmodium* et Primates Non Humains**

Les parasites du genre *Plasmodium* ont extraordinairement réussie à infecter de nombreux hôtes vertébrés, allant des mammifères, reptiles, jusqu'aux oiseaux. Nos plus proches cousins, les grands singes d'Afrique, ne font pas exception (Rayneretal., 2011). Plusieurs espèces de *Plasmodium* ont été retrouvées chez des PNH. En effet, trois espèces de plasmodies infectaient les grands singes africains, et ceux-ci pouvaient être distingués en fonction de leur cycle de vie et de leur morphologie. Une espèce ayant une ressemblance frappante avec *P. falciparum*, et nommé *P. reichenowi* (Coatneyet al., 1971). Le second parasite, *P. rhodaini* ressemblait à *P. malariae* chez les humains, tandis que la troisième, *P. schwetzi* a été appelé à *P. vivax-like* ou *P. ovale-like* (Bray, 1958). Mais une nouvelle espèce a été isolée chez deux chimpanzés (Pan troglodytes) gardés comme animaux de compagnie par des villageois au Gabon ; cette nouvelle espèce nommée *P. gabonia* été décrite comme étant un proche parent de *P. falciparum*, l'agent le plus virulent du paludisme humain (Ollomoet al., 2009).

L'infection à *Plasmodium* est endémique chez les chimpanzés du Nigeria, les chimpanzés du Cameroun centrale et orientale, ainsi que chez les gorilles des plaines de l'ouest. Avec des taux de prévalence estimés allant de 32% à 48% respectivement chez les chimpanzés du Cameroun et du Nigeria (*Pan troglodytes ellioti*) et 34% chez les chimpanzés de l'est (*Pan troglodytes schweinfurthii*) (Liu et al., 2010). Les taux d'infection réels sont susceptibles d'être encore plus élevé, car la détection des plasmodiums dans les selles peut être moins sensible que la détection dans le sang, comme c'est le cas pour les échantillons d'urine et de salive (Nwakanma et al., 2009).

**Nunn et al. (2005)** ont montré que la prévalence du paludisme augmente avec la taille du groupe des primates néo-tropicaux. Selon eux, leurs résultats étaient en cohérence avec l'hypothèse selon laquelle, les grands groupes présentent un risque accru d'être attaqué par des moustiques due à la modification des odeurs chez les sujets infectés favorisant l'attraction des moustiques.

Mise à part les espèces plasmodiales des grands singes (chimpanzés, gorilles), 3 espèces de *Plasmodium* sont connues pour infecter des primates simiens d'Afrique continentale. La première espèce découverte a été *Plasmodium gonderi* (**Sinton et Muligan, 1932**), chez des singes sauvages de la famille des *Cercopithecidae*. Elle a été observée en zone forestière de l'Afrique occidentale et centrale, du Libéria à l'embouchure du fleuve Congo. Les 2 autres espèces, *P. petersi* et *P. georgesi*, ont été décrites plus récemment par **Poirriez et al. (1993)** chez un mangabey à joues grises *Lophocebus albigena* (également infecté par *P. gonderi*) capturé dans le sud de la République centrafricaine. *P. georgesi* a aussi été observé chez un mangabey agile *Cercocebus galeritus agilis* capturé en République Démocratique du Congo. Toutes ces observations ont été effectuées chez des singes sauvages vivant en forêt. Autant que nous sachions, la littérature ne rapporte aucune infection plasmodiale chez un singe africain de savane (**Pourrut et Robert, 2009**). Peu d'études sur les facteurs de risque des hémoparasites chez les primates non humain en milieu sauvage sont disponibles à ce jour ; cependant une étude du parasitisme chez le mandrill au Gabon (*Mandrillus sphinx*) a montré que les animaux positifs en *hepatocystis spp*, étaient significativement plus âgés que les animaux négatifs (**Herbert, 2009**). *Hepatocystis spp* est un hémopathogène ressemblant à *Plasmodium spp* et transmis par les moustiques du genre *Culicoïdes* (**Garnham et al., 1961**).

Sur le plan moléculaire, l'analyse des séquences nucléotidiques à partir des parties restantes de l'ADN mitochondrial a démontré de manière significative, que toutes les séquences humaines actuellement disponibles de *P. falciparum* constituent une seule et même lignée imbriquée dans le clade G1 de parasites des gorilles. Cela signifie que *P. falciparum* de l'homme est d'origine gorille, et non de chimpanzé, le bonobo ou ancienne origine humaine, et que toutes les souches connues humaines peuvent avoir

été causées par un événement de transmission inter-espèces unique, (**Liu et al., 2010**). D'où le but poursuivi par ladite étude.

## **II.2. *Plasmodium* et rongeurs**

Quatre espèces de *Plasmodium* sont décrites chez les rongeurs à savoir : *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei* et *P. yoelli*.

## **II.3. *Plasmodium* et humains**

Quatre espèces de *Plasmodium* distinctes sont connues comme infectant l'homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*, auxquelles il faut désormais ajouter *P. knowlesi*. Cependant, les méthodes moléculaires ont révélé l'existence éventuelle d'autres espèces ou des variantes morphologiques. Par exemple, le séquençage du gène de la protéine de surface circumsporozoïte (CSP) a révélé que certains individus diagnostiqués avec des infections à *P. vivax* ont été réellement infectés par une espèce distincte plus étroitement liée à *P. simiovale*, un parasite du paludisme simien qui est morphologiquement identique à *P. vivax*.

## **II.4. Transmission interspécifique**

La transmission Homme-PNH est possible. Cependant, il y a peu d'infections humaines par des plasmodies d'origine simienne et le caractère bénin des manifestations cliniques chez l'Homme minimise son importance (**institut Pasteur, 2012**). Le Paludisme est avant tout une maladie humaine. Les vecteurs (anophèles) sont les principales sources de contamination de l'Homme par le biais de matières virulentes que constitue le sang, la transmission se faisant par piqûre nocturne des anophèles femelles. Cependant, l'adaptation d'espèces jusque-là non pathogènes pour l'homme comme c'est le cas des trypanosomes nécessite qu'on y accorde une attention particulière.

## Chapitre II : Généralités sur les trypanosomes

### I. Les trypanosomes

#### I.1. Définition

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés, endoparasites, se développant dans le milieu intérieur fermé tel que le sang (extracellulaire) et d'autres tissus et liquides organiques. Ils ont un rôle essentiellement pathogène, les espèces d'importance vétérinaire et médicale sont généralement hétéroxènes, c'est-à-dire qu'ils ont un cycle évolutif passant par deux hôtes : l'un est un invertébré, généralement un insecte piqueur constituant l'hôte intermédiaire ou vecteur chez lequel le parasite évolue dans le canal alimentaire; l'autre, un vertébré chez lequel le parasite se multiplie dans les liquides physiologiques, le sang en particulier.

#### I.2. Classification

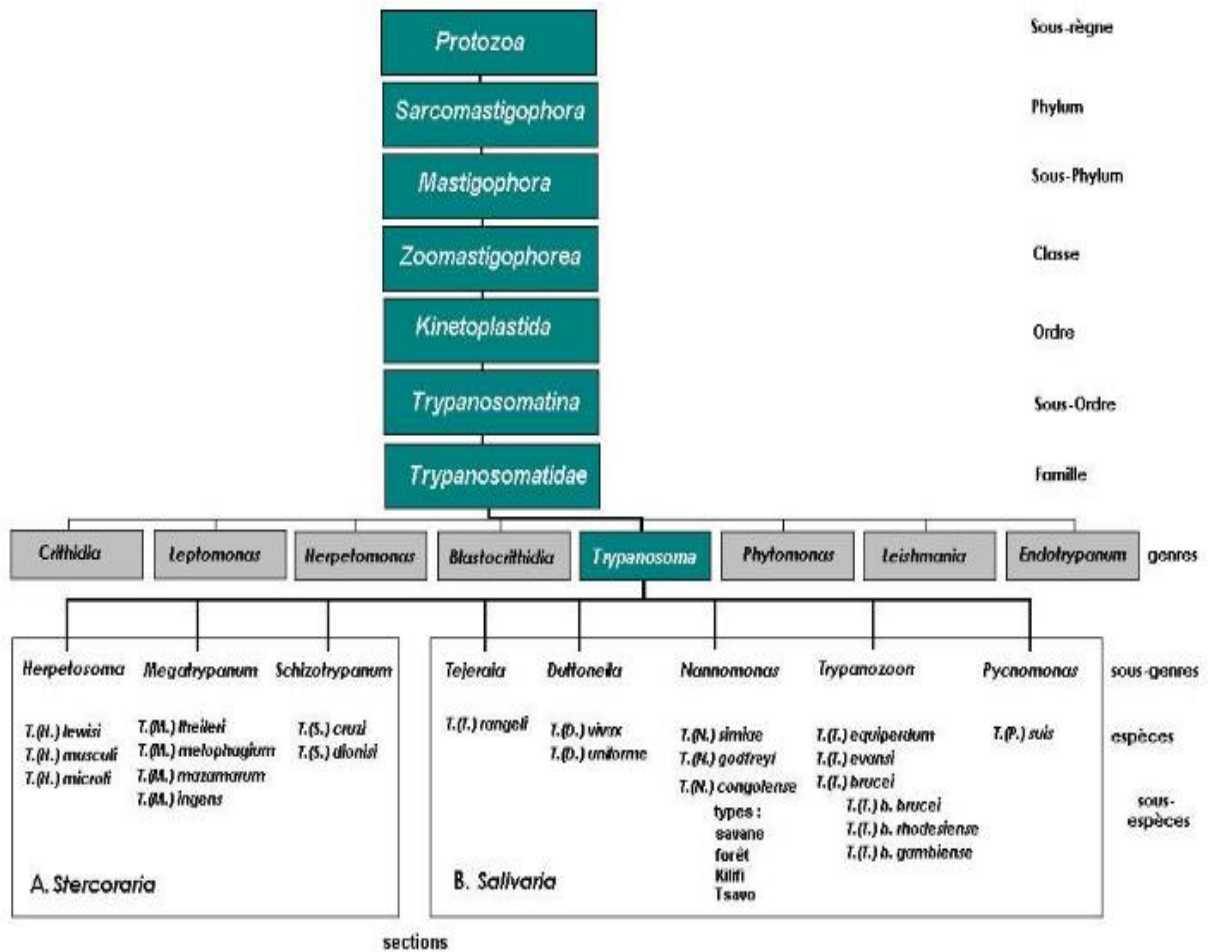
Les trypanosomes sont des organismes unicellulaires appartenant à l'ordre des Kinétoplastida, à la famille des Trypanosomatidae et au genre *Trypanosoma*. Le genre *Trypanosoma* comporte huit sous genres regroupés en deux sections : la section stercoraria et la section salivaria (**Hoare, 1972**).

- **La section stercoraria :**

Elle regroupe les trypanosomes à développement postérograde, transmissibles chez l'hôte vertébré par les déjections contaminantes du vecteur. Ici la forme infectieuse du trypanosome est rejetée avec les fèces puis pénètre dans la peau ou les muqueuses de l'hôte définitif. Ces trypanosomes sont d'importance médicale, tel que *T. cruzi* responsable de la maladie de Chagas, sévissant en Amérique Latine. Par ailleurs, des trypanosomes peu ou pas pathogènes pour le bétail interfèrent souvent dans le diagnostic des trypanosomes sur le terrain, c'est le cas de *Megatrypanum spp* (**Sidibé et Desquesnes, 2003**). De même, d'autres trypanosomes dont l'importance épidémiologique et la pathogénicité sont encore mal déterminées tel que *T. theleiri* peuvent aussi interférer lors des examens parasitologiques (**Vickerman, 1969**).

- **La section salivaria :**

Quant à elle, regroupe l'ensemble des trypanosomes à développement antérograde et transmis par pique ou par la salive du vecteur. Les trypanosomes d'importance vétérinaire y sont retrouvés, il s'agit des sous-genres nannomonas, pour *T. congolense* ; *duttonella* pour *T. vivax*; *trypanozoon* pour *T. brucei* et *T. evansi* et pycnomonas pour *T. suis*.



**Figure 7 :** Taxonomie des trypanosomes des mammifères (Hoare, 1972)

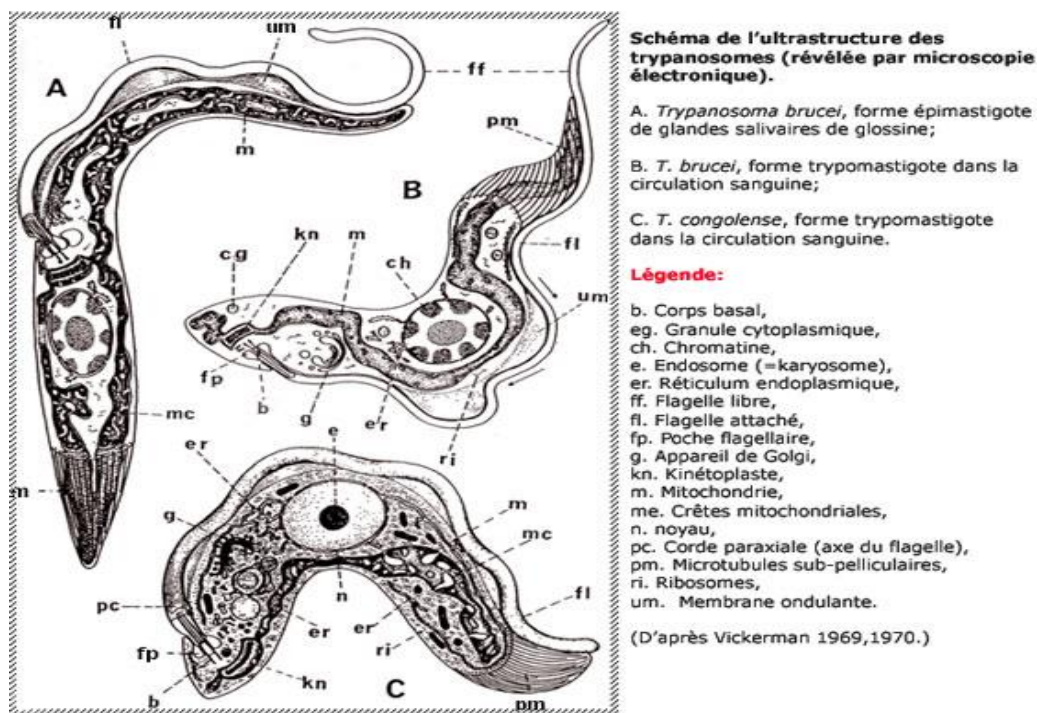
### I.3. Morphologie et structure

En général les trypanosomes sont formés d'une cellule unique qui constitue un organisme autonome. La forme classique des trypanosomes est celle d'une cellule fusiforme et aplatie, avec une membrane ondulante plus ou moins enroulée autour du corps prolongée vers l'avant par un flagelle libre. Cependant, cette forme varie d'une



espèce de trypanosome à une autre, mais aussi au cours du cycle évolutif (**Vickerman, 1970**).

L'observation au microscope ordinaire de cet organisme présente une masse cytoplasmique contenant des organites variés, ainsi qu'un noyau. La périphérie de cette masse de cytoplasme est limitée par une paroi cellulaire. L'ultrastructure du trypanosome montre :



**Figure 8** : Schéma de l'ultrastructure des trypanosomes révélée par microscopie électronique (Vickerman, 1970).

## I.4. Les hôtes

### I.4.1. Hôtes intermédiaires

Les vecteurs qui semblent avoir véritablement le plus d'influence sur la conservation, la multiplication et la transmission des trypanosomes et dont dépend la survie des trypanosomoses sont les glossines du genre *Glossina* (**Cuisance et al., 2003**). Ces glossines, Diptères cyclorraphes et hématophages, appartiennent toutes à la famille des Glossinidae, exclusivement africaines et continentales (avec toutefois deux exceptions : l'île de Zanzibar et peut-être un petit noyau en Arabie Saoudite), constituent actuellement l'axe principal des luttes pour l'éradication des Trypanosomoses



(Cuisance et al., 2003). Toutefois la transmission des trypanosomes est possible par les stomoxes et les tabanidés. L'existence et le développement des hôtes intermédiaires est principalement fonction des conditions climatiques (réseau hydrographiques, la végétation et la température), de la densité des hôtes nourriciers (animaux sauvages et domestiques hôtes définitifs des trypanosomes) et de l'existence des prédateurs de ces insectes.

#### **I.4.2. Hôtes définitifs**

Les trypanosomes se rencontrent chez de nombreuses espèces animales, mais ils semblent n'être pathogènes que pour les mammifères. Parmi les facteurs intrinsèques susceptibles d'influencer la sensibilité des animaux, l'effet de la race semble être le plus étudié.

### **I.5. Effets pathologiques des trypanosomes : les trypanosomoses**

#### **I.5.1. Définition**

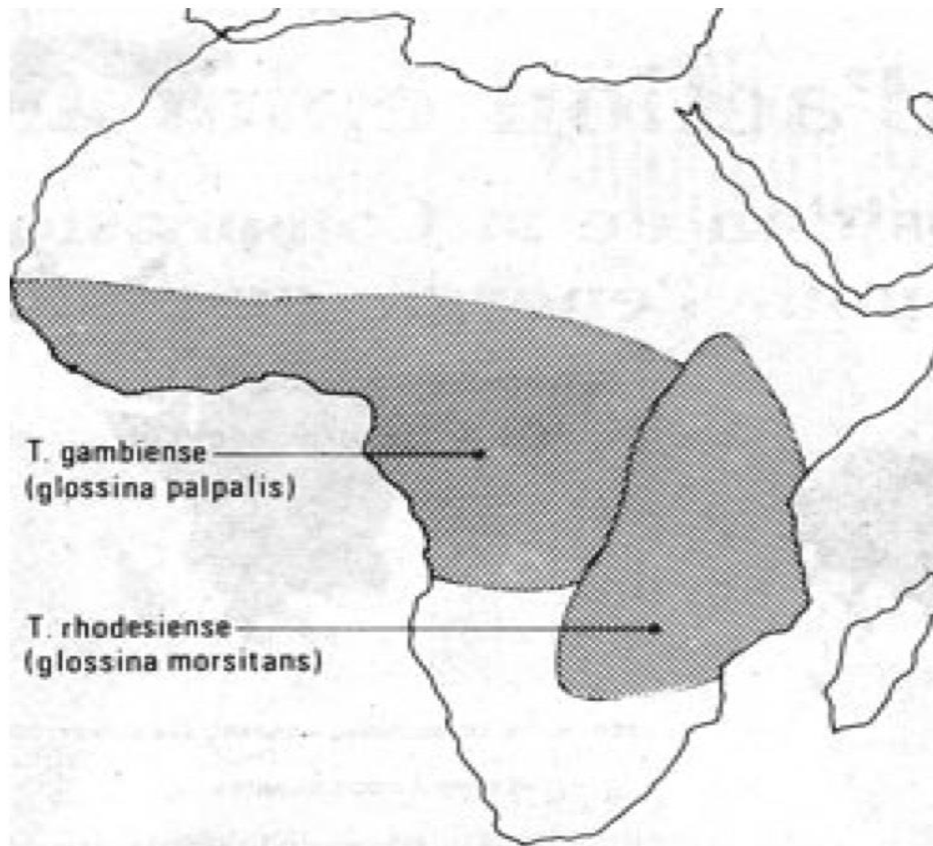
Les trypanosomoses sont des affections parasitaires désignant un groupe de maladies provoquées par la présence et la multiplication dans le plasma et dans divers tissus et liquides organiques de protozoaires flagellés appartenant au genre *Trypanosoma*. L'évolution de ces maladies est fonction de l'espèce de parasite et varie d'une forme aiguë à une forme chronique. De même, la durée et la symptomatologie sont fonction de l'espèce animale et de l'agent pathogène en cause (Hard, 2000). Ceci entraîne la synonymie suivante : le Nagana due aux trypanosomes animaux typiquement africains (*T. vivax*, *T. congolense*, *T. brucei*, *T. simiae* et *T. suis*); le surra, trypanosomose des camélidés; la dourine (maladie vénérienne des équidés); la maladie de Chagas, trypanosomose humaine en Amérique latine et la maladie du sommeil ou trypanosomose humaine Africaine (THA).

#### **I.5.2. Importance**

##### **I.5.2.1. La trypanosomose humaine africaine (THA)**

Deux sous-espèces d'un trypanosome *Trypanosoma brucei* se sont adaptées à l'homme et génèrent chez l'humain des pathologies différentes : *Trypanosoma brucei* ssp. *gambiense* (Afrique de l'Ouest et du centre) et *Trypanosome brucei* ssp. *rhodensiense*

(Afrique de l'Est) (OMS). Sur le plan clinique Les symptômes commencent par de la fièvre, typiquement intermittente, des maux de tête, et des douleurs articulaires. Un chancre (tuméfaction au niveau du point d'inoculation) se voit dans un cas sur cinq dans la forme rhodésienne mais est exceptionnel dans la forme gambienne (**Brun et al., 2009**).



**Figure 9** : Répartition géographique de la maladie du sommeil en Afrique (**FAO, 1994**)

#### **I.5.2.2. Les trypanosomoses animales**

Les pertes dues à ces infections sont constituées de la mortalité des animaux, la baisse de la productivité (**Kamuang et al., 2001**). Les pertes dues à la mortalité varient en fonction des localités, elles peuvent atteindre 63,6% en l'absence de contrôle et 8% lorsque des actions de luttés sont entreprises contre les glossines. La baisse de productivité est représentée par une chute de la production laitière et de la force de travail avoisinant respectivement 2 à 26% et 38% de la production dans les zones à fort risque par rapport aux zones à faible risque (**Shaw, 2004**). De même, les avortements varient de 6 à 19 % dans les zones à fort risque de transmission

trypanosomiène par rapport aux zones à faible infection (**Swallow, 2000; Kamuanga et al., 2001**). Outre les pertes directes, la trypanosomose constitue un frein à l'introduction du bétail exotique plus performant, entraîne la réduction du rendement agricole par une baisse du nombre de bœufs de trait et engendre des coûts honorables par la lutte contre les vecteurs et l'utilisation des produits trypanocides. Par ailleurs, la présence des glossines empêche le développement de l'élevage à certains endroits où la pression glossinienne est forte et où le pâturage est pourtant abondant limitant ainsi la production animale dans les zones infestées d'Afrique subsaharienne. Selon **Sidibé et Desquesnes. (2003)**, le cheptel bovin africain, pourrait être accru de 33 millions de têtes supplémentaires en l'absence de ces glossines. Chez les PNH la symptomatologie trypanosomiène n'a encore été décrite à ce jour.

## **I.6. Biologie des trypanosomes**

### **I.6.1. Reproduction**

La reproduction chez les trypanosomes se fait par division asexuée. Cependant, bien que la division sexuée n'ait pu être mise en évidence, l'échange de matériel génétique semble possible chez les trypanosomes (**Chartier et al., 2000**). Cette division débute par la formation d'un nouveau flagelle à proximité de l'ancien, se poursuit par bipartition du kinétoplaste, puis du noyau pour s'achever par la fission longitudinale du cytoplasme, donnant ainsi des trypanosomes distincts sous formes trypomastigotes. Ainsi un seul trypanosome, en se divisant toutes les 4 ou 6 heures, peut en donner 64 en 24 heures (**Chartier et al., 2000**).

### **I.6.2. Cycle biologique**

Il existe deux voies possibles de transmission des trypanosomes du vecteur à l'hôte définitif.

- ***Transmission mécanique***

Il s'agit d'un transfert de trypanosomes d'un hôte définitif à un autre sans cycle évolutif, ce qui nécessite un intervalle de temps réduit. Parmi les trypanosomes pathogènes des animaux, cette transmission semble très peu possible pour *T.*

*congolense* et *T. brucei*; cependant, *T. vivax* est facilement transmis par les stomoxes et les tabanidés (**Chartier et al., 2000**). Ainsi sa répartition est plus large que celle des glossines, puisqu'on le trouve sur d'autres continents.

- **Transmission cyclique**

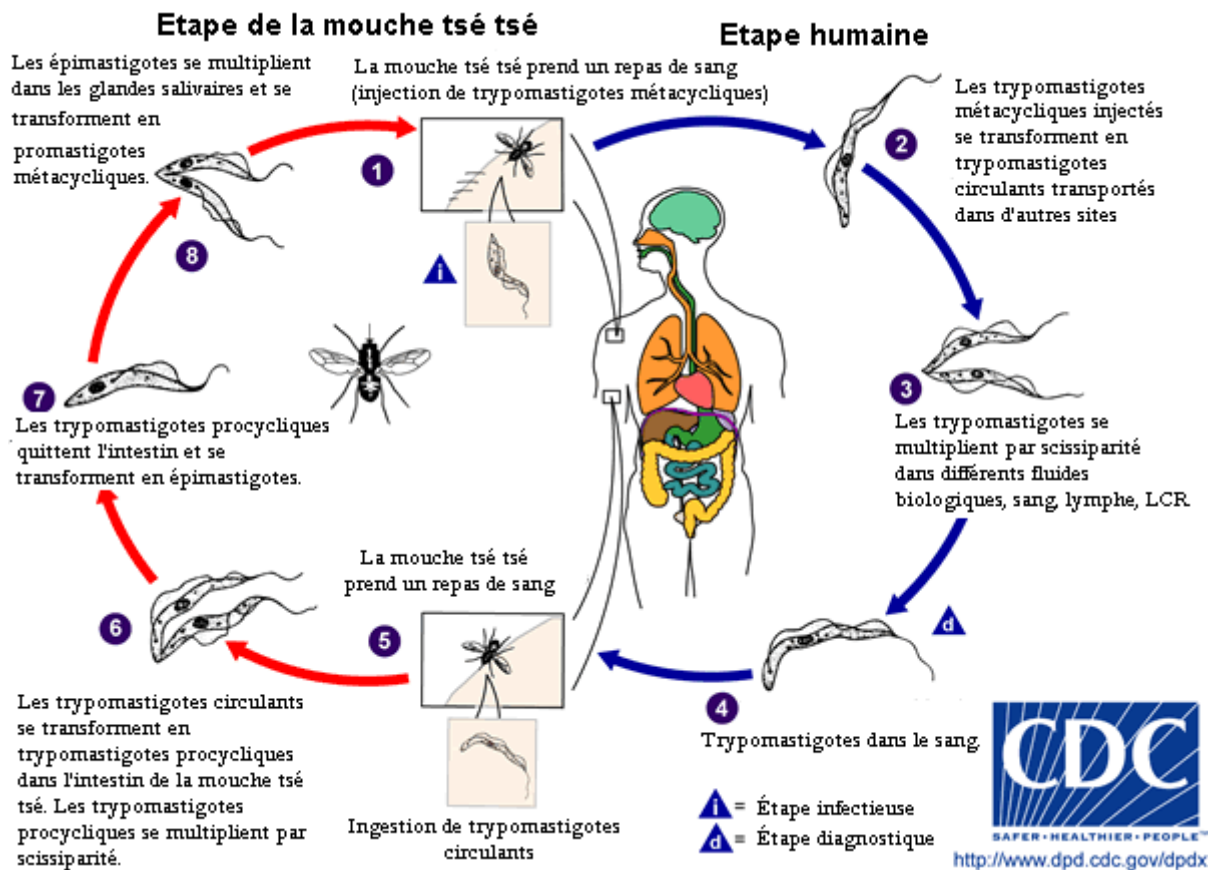
Elle s'effectue par l'intermédiaire des glossines et implique une évolution préalable des trypanosomes. Dans ce cas les trypanosomes subissent une série de transformations cellulaires à l'intérieur de l'agent vecteur et de l'hôte mammifère (**Vickerman, 1985**).

- **Chez les vecteurs**

Les stades intestinaux chez le vecteur sont essentiellement des formes trypomastigotes, mais le caractère essentiel est que tous les trypanosomes doivent passer par le stade épimastigote avant de se transformer en trypomastigotes métacycliques infectants ou métatrypanosomes.

- **Chez les mammifères**

Les formes métacycliques infectieuses présentes dans les pièces buccales des glossines sont injectées dans le derme de l'hôte mammifère. Elles se multiplient ensuite pendant plusieurs jours au point d'injection provoquant parfois des réactions inflammatoires appelées chancres. Les trypanosomes rejoignent ensuite la circulation générale après leur migration suivant la voie lymphatique vers le ganglion de drainage. Ils sont ainsi détectables dans la lymphe afférente de ce ganglion quelques jours avant leur détection dans le sang (**Akol et Murry, 1986**). Selon **Clausen et al. (1993)**, la durée de la période prépatente varie généralement de 1 à 3 semaines en fonction de l'espèce, de la souche de trypanosome, du nombre de trypanosomes injectés et de l'état immunitaire de l'hôte. Les trypanosomes évoluent dans le sang par vagues parasitémiques correspondant à des phénomènes d'échappement aux défenses immunitaires de l'hôte. Ces phénomènes d'échappement sont contrôlés par la glycoprotéine variante de surface recouvrant le trypanosome et son flagelle (**Chartier et al., 2000**).



**Figure 10 : Cycle évolutif des trypanosomes (CDC Parasitology).**

## I.7. Diagnostic des trypanosomoses

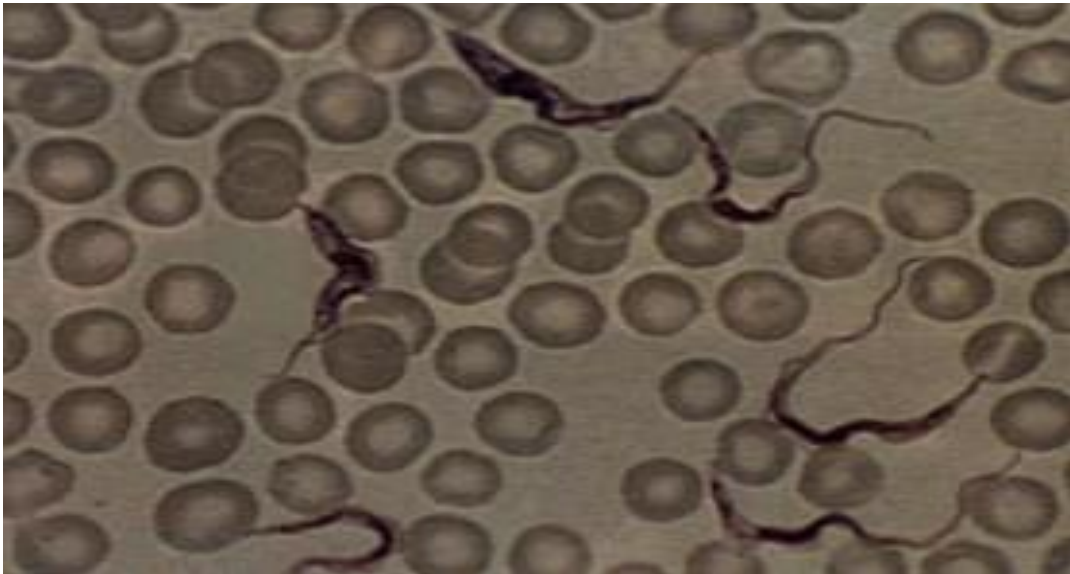
Dans le cadre des trypanosomoses humaines et animales, les symptômes peuvent évoquer beaucoup d'autres maladies parasitaires ou infectieuses en l'absence de signe pathognomonique (chancre d'inoculation chez l'homme). De ce fait, le diagnostic clinique est très souvent aléatoire et nécessite qu'un diagnostic de certitude soit réalisé par la mise en évidence de la présence du parasite (**Desquesnes et al., 2003**).

### I.7.1. Examens parasitologiques

Il s'agit d'un examen microscopique qui peut être réalisé directement sur les prélèvements ou après une concentration. Le prélèvement se fait par ponction du sang, de la lymphe, du liquide céphalorachidien et de l'humeur aqueuse de l'œil.

### I.7.1.1. Observations directes

Elles peuvent être réalisées sur le prélèvement à l'état frais ou sur du matériel biologique coloré au May-Grünwald-Giemsa (10%) après ou sans fixation. Ces examens permettent l'identification des parasites sur les critères morphologiques ou de motilité ou de taille pour l'observation des échantillons à l'état frais (**Hard, 1981**) et sur des critères de morphologie et de morphométrie pour les échantillons fixés. Malheureusement, le nombre de parasites de *T. b. gambiense* peut varier de 10.000 trypanosomes/ml, facilement détectable, à moins de 100 trypanosomes/ml, inférieure à la limite de détection des méthodes les plus sensibles à l'utilisation (**Simarro et al., 2002**). L'observation directe des échantillons biologiques constitue un diagnostic de certitude, toutefois la sensibilité est faible et de nombreux cas échappent à cette détection, une alternative est l'augmentation de la concentration des trypanosomes avant l'observation.



**Figure 11** : Formes trypomastigotes sanguines de *T. b. rhodesiense* sur un frottis sanguin mince périphérique (**Jannin, 2010**).

### **I.7.1.2. Observations après centrifugation :**

La méthode la plus couramment utilisée, consiste en une centrifugation différentielle de sang sous anticoagulant dans un tube à hémocrite (Haematocrit Centrifuge Technique) (OMS, 1970). Après centrifugation, les trypanosomes se retrouvent au voisinage de l'interface globules blancs/plasma. L'observation se fait directement dans le tube sous un microscope à contraste de phase. Cette technique de centrifugation hémocrite est 4 fois plus sensible que l'examen direct de sang et 2,5 fois plus sensible que la méthode des étalements (Toro et al., 1981). Toutefois, il est à noter que les modifications morphologiques engendrées par la centrifugation à haute vitesse empêchent les études de morphométrie du parasite dans ces conditions. En revanche, l'identification du sous-genre est toujours réalisable. Il existe des variantes de cette méthode qui sont utilisées sur le terrain avec satisfaction telles que la double centrifugation (Veryetal., 1990), l'observation directe du buffycoat (Murray et al., 1977) et l'observation du buffycoat après fixation sur une lame et après coloration (Betancourt et al., 1979). Il existe d'autres méthodes telles que : la technique de filtration sur colonne de DEAE- cellulose qui permet de fixer les cellules sanguines et de récolter les trypanosomes. La technique du QBC (Quantitative Buffy Coat) est aussi une technique utilisant un tube capillaire équipé d'un flotteur et tapissé de colorant qui rend les parasites fluorescents, sa sensibilité est controversée et son coût est très onéreux comme technique de diagnostic vétérinaire. D'autres techniques comme la centrifugation en silicone et la technique de la lyse hypotonique des globules rouges ou à l'aide de détergents ont été décrites (Bocquentin et al., 1994).

### **I.7.2. Culture des Trypanosomes**

Les trypanosomes peuvent également être cultivés *in vivo* permettant de visualiser longtemps après, des trypanosomes initialement rares lors des prélèvements. La culture des trypanosomes *in vitro* est possible mais la technique est délicate et onéreuse, c'est aussi une des méthodes sensibles de détection de *T. theileri* (Hoare, 1972).

### I.7.3. Diagnostic moléculaire

La Polymérase Chain Réaction (PCR), est une amplification enzymatique en chaîne de l'ADN par l'ADN polymérase (Taq polymérase). C'est la technique la plus sensible et spécifique pour le diagnostic des trypanosomes, car elle permet de révéler la présence de segments d'ADN ayant des séquences de bases connues, au moins en partie (**Higuchi, 1989**). Dans des conditions idéales, et en l'absence d'inhibiteurs, la détection d'une seule molécule d'ADN est possible, révélant l'extrême sensibilité potentielle de la technique (**Penchenier et al., 1996**). C'est donc une technique très sensible, mais aussi très fragile puisqu'une seule molécule contaminant un échantillon peut le rendre faussement positif (**Talaki, 2008**). Il existe d'autres méthodes aussi sensibles de mise en évidence de la présence des parasites par la détection d'anticorps (ELISA indirecte).

## II. Trypanosomes et les communautés d'hôtes

Plusieurs études ont été réalisées sur les trypanosomes des animaux domestiques en Afrique, cependant très peu de recherches ont été menées sur ces pathogènes chez les animaux sauvages en général et en Afrique Centrale en particulier (**Simo et al., 2000**). Les résultats préliminaires sur l'étude de la prévalence des infections à trypanosomes chez les animaux sauvages du foyer de la maladie du sommeil de Bipindi au Cameroun ont montré que 39% d'animaux sauvages du foyer de la maladie du sommeil de Bipindi ont été en contact avec au moins une espèce de trypanosome (**Simo et al., 2000**). L'espèce *Trypanosoma brucei s.l* avait la plus forte prévalence (22%). *Trypanosoma vivax* avait une prévalence relativement importante (11%). La prévalence (6%) du sous genre *Nannomonas* (*T. congolense* « type forest », *T. congolense* « type savannah » et *T. simiae*) était faible. Les inoculations expérimentales avec transmission cyclique ont montré que certains animaux sauvages peuvent être infestés par *T. b. gambiense* et parmi eux quelques-uns développent une forme chronique de la maladie comme chez l'homme (**Van Hoof, 1947 ; Mooloo et al., 1986**).



### II.1. Trypanosomes et primates non humains

Il a été constaté une forte prévalence à *T. brucei gambiense* (pathogènes pour l'homme) chez les singes *Cercopithecus* et *Cercocebus* de la région de Bipindi. En outre, *Trypanosoma congolense* « type forest » a été retrouvé uniquement chez ces mêmes primates (Simo et al., 2000).

### II.2. Trypanosomes et rongeurs

Les rongeurs représentent de bons modèles expérimentaux, *T. b. gambiense* se développe très bien chez les lémuriers (*Thamnomys*, *Praomys*, *Oenomys*, *Lemniscomys*, *Cricetomys* et *Dasymys*) et les rongeurs sauvages (Frézil et Carnevale, 1976). Chez près de 54% des rongeurs à Bipindi, Cameroun, l'ADN d'au moins une espèce de trypanosome a été mis en évidence (Simo et al., 2000). Il a été observé que les trypanosomes pathogènes pour l'homme se développeraient facilement chez les rongeurs (13%) tels que l'athérure (*Atherurus africanus*) et le rat de Gambie (*Cricetomys gambianus*). Le rat de Gambie est très réceptif à *T. b. gambiense* et développe même la forme chronique de la maladie du sommeil (Larivière, 1957). En outre, Molyneux. (1971) a montré que les glossines peuvent pénétrer expérimentalement les terriers et se gorger sur les rats de Gambie.

### II.3. Trypanosomes et humains

Deux sous-espèces d'un trypanosome animal, *Trypanosoma brucei* génèrent chez l'humain des pathologies différentes : *Trypanosoma brucei ssp. gambiense* (Afrique de l'Ouest) et *Trypanosome brucei ssp. rhodensiense* (Afrique de l'Est). Les personnes à risque sont les populations vivant dans les zones endémiques en glossines en général, mais sont particulièrement exposées celles vivant en milieu rural et pratiquant des activités agricoles, l'élevage, la chasse (OMS). Bien que les humains possèdent une protection innée contre la plupart des espèces de Trypanosomes (Vanhamme et al., 2003), cependant, 19 cas de trypanosomoses humaines atypiques (un-HT) causées par *T. b. brucei* (Hoare, 1972 ; Deborggraeve et al., 2008 ), *T. vivax* (Hoare, 1972 ), *T. congolense* (Truc et al., 1998), *T. evansi* (Joshi et al. 2005) et *T. lewisi* (Johnson,

**1933 ; Doke et Kar, 2011**), tous considérés comme non-infectieux pour l'homme, ont été rapportés. Au cours des dernières années, *T. evansi* et *T. lewisi* ont émergé comme potentiellement pathogènes pour l'homme (**Truc et al., 2013**). Sur les 15 cas humains enregistrés entre 1974 et 2010, neuf ont été signalés depuis 2003. Certains cas ont été identifiés par l'observation microscopique des trypanosomes seuls et d'autres en utilisant des outils moléculaires (**Truc et al., 2013**). Seuls quelques cas ont été pleinement confirmés, en particulier en Asie, ce qui conduit à l'hypothèse que la prévalence réelle est probablement sous-estimée. Ainsi, l'amélioration, l'évaluation de nouveaux tests de diagnostic et des enquêtes sur le terrain sont nécessaires pour la détection et la confirmation de ces cas atypiques (**Truc et al., 2013**). Ce qui témoigne d'une adaptation inter-espèce nouvelle, d'où la nécessité de comprendre les mécanismes qui la sous tendent au plan moléculaire.

**Tableau I** : Formes atypiques de Trypanosomoses humaines répertoriées dans le monde (Truc et al., 2013).

Patient	Pays	Espèces de Trypanosomes	Date	Méthode d'identification	Fièvre	Traitement	Résultat
1	Ghana	<i>T. vivax</i>	1917	Microscopie	ND	ND	ND
2	Institut Pasteur	<i>T. b. brucei</i>	1930	Microscopie	ND	ND	ND
3	Congo	<i>T. b. brucei</i>	1947	Microscopie	Présent	Aucun	Auto Guérison
4	Ethiopie	<i>T. b. brucei</i>	1987	Microscopie	ND	ND	Guérison
5	Ghana	<i>T. b. brucei</i>	2003	PCR	Présent	Aucun	Auto Guérison
6	Cote d'Ivoire	<i>T. Congolense</i>	1998	PCR	Présent	Pentamidine	Guérison
7	Inde	<i>T. evansi</i>	1977	Microscopie	Présent	Atoxyl	Guérison
8	Sri Lanka	<i>T. evansi</i>	1999	Microscopie	Présent	Aucun	Auto Guérison
9	Inde	<i>T. evansi</i>	2004	PCR	Présent	Suramin	Guérison
10	Inde	<i>T. evansi</i>	2005	Microscopie	Présent	Aucun	Mort
11	Egypte	<i>T. evansi</i>	2010	Microscopie	Présent	ND	Guérison
12	Malaysie	<i>T. lewisi</i>	1933	Microscopie	Présent	Aucun	Auto guérison
13	Inde	<i>T. lewisi</i>	1974	Microscopie	Présent	Aucun	Auto guérison
14	Inde	<i>T. lewisi</i>	1974	Microscopie	Présent	Aucun	Auto guérison
15	Gambie	<i>T. lewisi-like</i>	2003	PCR/S	Présent	Melarsoprol	Guérison
16	Thaïlande	<i>T. lewisi-like</i>	2003	PCR/S	Présent	Antibiotic	Guérison
17	Inde	<i>T. lewisi</i>	2006	Microscopie	Présent	Aucun	Auto guérison
18	Inde	<i>T. lewisi</i>	2007	PCR	Présent	Suramine	Mort
19	Inde	<i>T. lewisi</i>	2010	PCR/S	Présent	Pentamidine	Guérison

#### II.4. Transmission interspécifique

La transmission à l'homme est assurée par les mâles et les femelles d'un insecte diptère du genre *Glossina*. Il a été démontré dans certains foyers déclarés, que les abords des cours d'eaux et les galeries forestières, présentent un risque de transmission primaire très important à cause des conditions écologiques favorables, à la fois par la longévité des glossines et donc l'amplification des trypanosomes et par la présence régulière des humains pour les baignades et les occupations ménagères (Mbida et al., 2008). Plusieurs études ont montré que la transmission de la trypanosomose humaine

est liée à la compétence vectorielle de la glossine, au comportement des animaux hôtes nourriciers et aux faciès écologiques (**Laveissiere, 1994**). La diversité des gîtes de glossines et des situations épidémiologiques a ainsi permis, en Afrique occidentale et centrale, de définir globalement deux faciès éco-épidémiologiques majeurs (**Challier, 1971**) :

- La savane où les glossines vivent dans les galeries forestières et s'en éloignent peu,
- la forêt où les glossines sont ubiquistes, même si leur concentration est plus importante le long des cours d'eau, dans les zones humides et dans les sous-bois dégagés (sentiers en franchissement des cours d'eau, plantations...).

En savane, la transmission de la maladie a lieu lorsque l'homme fréquente les cours d'eau et leurs abords immédiats, alors qu'en forêt, la transmission semble *a priori* avoir lieu partout.

**DEUXIEME PARTIE :**

**ETUDE EXPERIMENTALE**

# Chapitre I : Matériel et méthodes

## I. Présentation du cadre d'étude

### I.1. Le CIRMF et son Centre de Primatologie

Situé au sud-ouest du Gabon, le Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF) est un Institut Gabonais de référence pour la recherche, la formation et de soutien au système de santé. Si la recherche initiale au CIRMF était orientée sur les pathologies parasitaires et la fécondité humaine, les thématiques de recherche se sont rapidement élargies aux autres questions de santé majeures pour l'Afrique Centrale. Aujourd'hui, les activités du Centre se diversifient et intéressent des recherches en virologie fondamentale et épidémiologie, en parasitologie, en primatologie, en génétique, en hématologie et en écologie de la santé. La formation à l'excellence est faite d'une action participative à ces recherches et se fait par l'accueil de jeunes chercheurs, étudiants, doctorants et post doctorants Gabonais et du Monde entier. Les chercheurs du CIRMF participent aussi aux enseignements académiques universitaires. Le CIRMF remplit enfin une mission fondamentale d'appui à la santé publique au niveau national et international en mettant à disposition ses expertises : du diagnostic de laboratoire à l'aide aux interventions de riposte aux épidémies.



Figure 12 : Localisation des sites d'étude dans la province du Haut-Ogooué

Le Centre De Primatologie a été installé au sein des 40 ha du Campus du C.I.R.M.F dès sa création dans les années 1980. Au fil des années, ce centre est devenu l'un des centre de primatologie les plus important d'Afrique. Près de 400 primates, pour la plupart originaires du Gabon, (chimpanzés, gorilles, mandrills, cercopithèques à queue de soleil, mangabeys à collier blanc, hocheurs) d'Afrique, (vervets) ou d'Asie, (Macaques rhésus et macaques cynomolgus) sont élevés dans ce centre dédié à la recherche. Selon les besoins et les possibilités, les animaux sont maintenus captifs soit en cage individuelle dans des bâtiments de haute sécurité type A2 et A3, soit dans de grandes « volières » pouvant héberger une dizaine d'individus selon la taille et la composition des groupes ou encore dans des enclos de semi-liberté de plusieurs hectares. Une équipe d'animaliers, d'éthologue et de vétérinaires assure son bon fonctionnement.

Les équipements médicaux de ce Centre sont comparables à ceux d'un hôpital de la sous-région (salle de soins, salle de chirurgie, salle d'imagerie médicale) et permettent la réalisation de l'ensemble des soins médicaux ou chirurgicaux nécessaires. Les primates sont soumis annuellement à un contrôle sanitaire et leur population est régulée par un programme de maîtrise de la reproduction. Le CDP fait un effort important depuis quelques années pour améliorer les conditions de captivité des primates qu'il élève.



**Figure 13 :** Le Centre de Primatologie du CIRMF

1. Volière des gorilles
2. Volière des chimpanzés
3. Volière des mangabeys couronnés
4. Volière des mandrills en volière
5. Des macaques rhésus
6. Des vervets et des cercopithèques à queue de soleil (endémique au Gabon)
7. Dans de grands espaces de forêt tropicale, en semi-liberté, 3 grandes colonies de mandrills (environ 200 au total) et une petite colonie de cercopithèques

**B** : bureaux, les salles de médecine, d'imagerie et de chirurgie

**Q**:le local de quarantaine stricte

**P4** : le laboratoire de Très Haute Sécurité

## **I.2. Le Programme de Protection des Gorilles**

PPG- Gabon (Projet Protection des Gorilles) a été directement impliqué dans les initiatives de conservation de l'habitat dans et autour du parc national des plateaux Batéké (PNPB) ainsi que fournir un sanctuaire, la réhabilitation et un espace sauvage protégée pour la réintroduction des gorilles orphelins qui ont été sauvés du trafic de la faune et le commerce de viande de brousse. Aujourd'hui, il y a deux groupes qui vivent en toute indépendance dans le PNPB, et ils sont régulièrement suivis par le personnel du PPG actuellement au nombre de 24 personnes.

## **I.3. Le parc de la LEKIEDI**

Le parc de la Lékédi est situé au Sud-Est du Gabon, dans la région du Haut\_Ogooué, à 100 km de Franceville et à 50 km de la cité minière de Moanda. La ville la plus proche du parc est Bakoumba, à 7 km, le chef-lieu du département de Lekoko. La frontière avec la République du Congo est à 50 km du parc environ. Le parc occupe 14 000 hectares entièrement clôturé ; il est long de 20 km et large de 7 km. Il est traversé par plusieurs rivières dont les deux plus importantes sont la Missombo et la Lékédi. Toutes les espèces présentes dans le Parc sont autochtones, excepté les impalas, importés de Namibie. Un suivi particulier est accordé aux grands singes:



gorilles et chimpanzés. Mais on y trouve aussi des mandrills, des sitatungas, des guibs, des buffles, de nombreuses espèces de petits singes et d'oiseaux, ainsi que des panthères.

## II. Matériel

### II.1. Communauté d'hôtes

#### II.1.1. Les Primates NH

Ils étaient représentés par les PNH du Centre De Primatologie qui en héberge près de 400, pour la plupart originaires du Gabon, d'Afrique et d'Asie. Les espèces africaines sont essentiellement composées de chimpanzés (*Pan troglodyte*), de gorilles (*Gorilla gorilla*) de Mandrills (*Mandrillus sphinx*) et de vervet ou singes verts. Parmi ces espèces, certaines sont endémiques au Gabon à savoir les cercopithèques hocheurs et moustacs et les torquatus (*Cercocebus torquatus*). Les espèces asiatiques étaient représentées par les macaques cynomolgus ou macaques crabiers (*Macaca fascicularis*) et les macaques rhésus (*Macaca mulatta*).

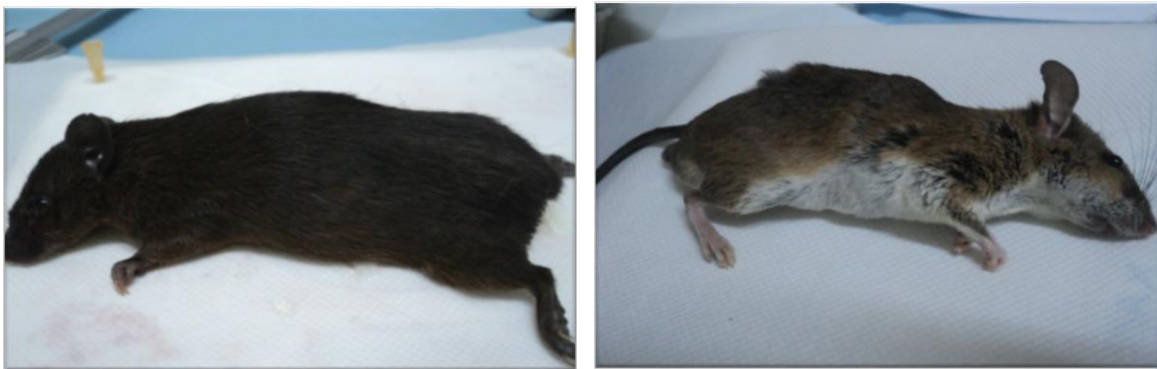


**Figure 14 :** Primates non humains du CDP : a) : Chimpanzé, b) : Cercopithèques, c): Gorille, d) : Mandrill (Photo : CIRMF)

En plus des PNH du CDP, d'autres PNH recueillis à travers le Gabon durant la période de l'étude ont été intégrés à la population d'étude, ainsi que ceux vivant au parc de la Lekiedi à Bakoumba et ceux du programme de protection des gorilles (PPG). Les PNH du PPG étaient uniquement des gorilles alors que ceux du parc de LEKIEDI étaient constitués de gorilles et de chimpanzés.

### II.1.2. Les rongeurs

Au cours de nos captures nous avons capturés au total 269 rats appartenant à 5 espèces différentes selon la clef d'identification des petits rongeurs du Gabon (Duplantier, 2011). Les 5 espèces identifiées sont les suivantes : *Lemniscomys striatus* ou rat raillé, *Lophuromys nudicaudus*, *Mastomys natalensis*, *Rattus rattus* et *Praomys sp*. Tous ces rats ont été capturés uniquement au CDP.



**Figure 15 :** *Lophuromys nudicaudus* et *Praomys sp* (Photo : Otoro)



**Figure 16 :** *Mastomys natalensis* (Photo : Otoro)

### **II.1.3. Les humains**

La population humaine était représentée par les agents du CDP, du parc de la LEKIEDI et du Programme de Protection des Gorille, qui sont en relation avec les PNH dans 3 types de milieux différents, le CDP (zone semi-urbaine), le parc de la Lekiedi (milieu naturel avec activité touristique), le PPG (milieu sauvage avec une pression humaine réduite). La participation des agents au protocole a été faite sur la base du volontariat, avec la signature d'une fiche de consentement éclairé qui leur a préalablement été expliquée. Cette fiche (voir annexe 1) précise qu'un numéro d'identification est attribué à chaque volontaire, permettant ainsi l'utilisation des échantillons sanguin sous le couvert de l'anonymat. L'équipe de médecins du CIRMF étant la seule à disposer des identités réelles des individus. Au total 37 personnes ont participé au protocole selon la répartition suivante 17 CDP (Franceville) 16 Parc de la LEKIEDI (Bakoumba) 5 PPG.

## **II.2. Communauté de pathogènes**

### **- *Plasmodium***

Différentes espèces de trypanosomes de plasmodiums ont été découvertes chez les PNH au Gabon en marge des espèces plasmodiales humaines. Le tableau II présente les différentes espèces que nous aurions pu retrouver au cours de notre étude.

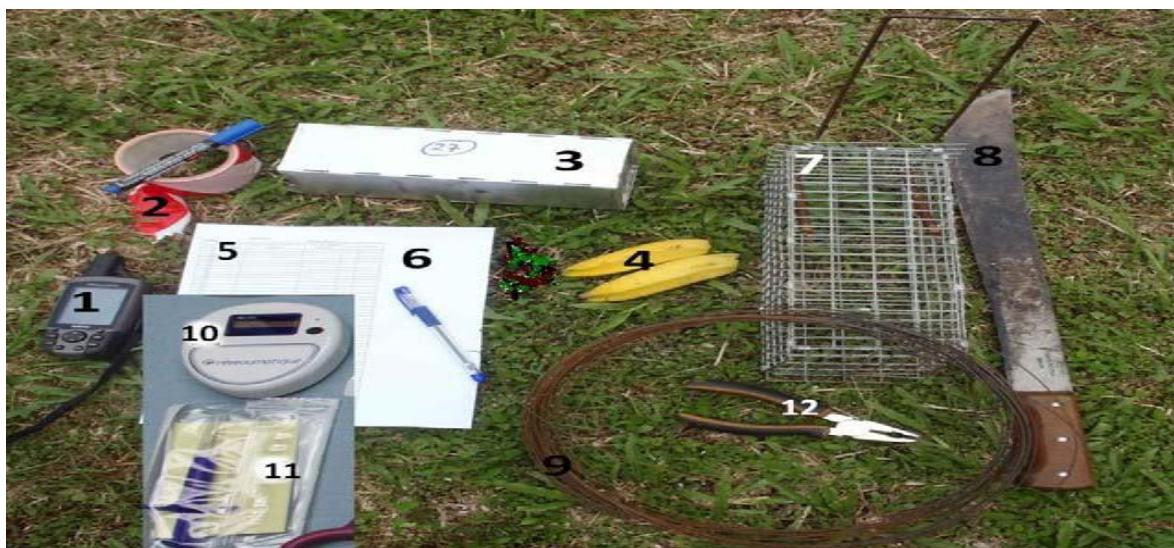
### **- *Trypanosomes***

A ce jour, en marge des espèces humaines et des animaux domestiques, aucune espèce de trypanosomes n'a été signalée chez les PNH et les rongeurs du Gabon. Mais plusieurs ont été trouvées dans la région de Bipindi au Cameroun.

**Tableau II : Espèces plasmodiales chez les PNH rencontrés au Gabon**

	<b>Gorille</b>	<b>Chimpanzé</b>	<b>Mandrills</b>	<b>Cercopithèques</b>
<i>P.reichenowi</i>	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>	jamais vue	jamais vue
<i>P.schwetzi</i>	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>	jamais vue	jamais vue
<i>P.rodhaini</i>	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>	jamais vue	jamais vue
<i>P.gonderi</i>	<b>jamais vue</b>	jamais vue	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>
<i>Hepaticystis</i>	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>	<b>I. naturelle</b>
<i>Plasmodium sp</i>	jamais vue	jamais vue	oui M.L	jamais vue
<i>P. vivax</i>	jamais vue	<b>I. expérimentale</b>	jamais vue	jamais vue
<i>P. ovale</i>	jamais vue	<b>I. expérimentale</b>	jamais vue	jamais vue
<i>P. malariae</i>	<b>I. expérimentale</b>	<b>I. expérimentale</b>	jamais vue	jamais vue
<i>P. falciparum</i>	<b>I. expérimentale</b>	<b>I. expérimentale</b>	jamais vue	jamais vue

### II.3. Matériel de capture et de localisation



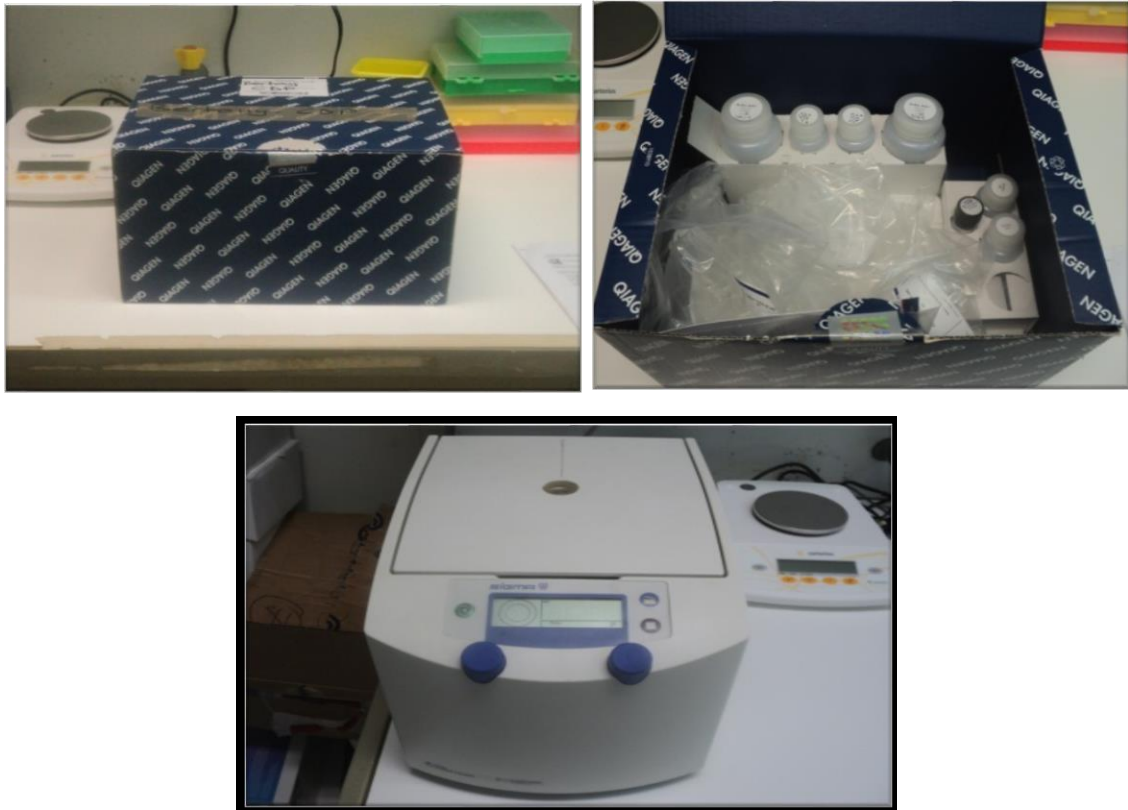
**Figure 17 : Matériel de capture et de géolocalisation (Photo : Otoro)**

1. GPS (CSX60, Garmin, Taiwan, Chine) utilisé pour géo-référencier les endroits de chaque piège posé ;
2. Ruban utilisé pour marquer chaque lieu ;
3. Piège Sherman,
4. Bananes servant d'appât ;
5. feuille de relevé des pièges qui permet de noter les positions de chaque prise jour
6. Stylo utilisé pour la prise de notes ;
7. Piège Tomahawk qui est un piège a déclenchement automatique. C'est un piège grillagé avec un volume de 4,065 dm<sup>3</sup>, utilisé essentiellement pour la capture des galagos, mais des souris également ;
8. Machette qui permet de se frayer un chemin dans la forêt ;
9. Fil de fer qui sert à maintenir le piège sur l'arbre ;
10. lecteur de puce permettant de voir si la souris capturée est une recapture ou non ;
11. une seringue pour transpondeur, qui permet d'implanter un transpondeur à l'animal en sous cutanée et permettra de l'animal pour une longue période ;
12. Pince métallique utilisé pour la coupe de fil de fer

## **II.5. Matériel de laboratoire**

Le matériel de laboratoire nécessaire à la réalisation dudit travaille était constitué du matériel de dissection des rongeurs et de prélèvement des rongeurs et des PNH ; du matériel d'extraction d'ADN ; de PCR et de migration des produits de PCR.





**Figure 18 : Matériel d'extraction d'ADN (Photo : Otoro)**

### **III. Méthodologie**

Notre étude s'est déroulée durant la période comprise entre le 15 Novembre 2012 et le 30 Juillet 2013. Nous avons eu recours à diverses méthodes pour arriver à nos résultats. Ces méthodes sont décrites dans les paragraphes qui suivent.

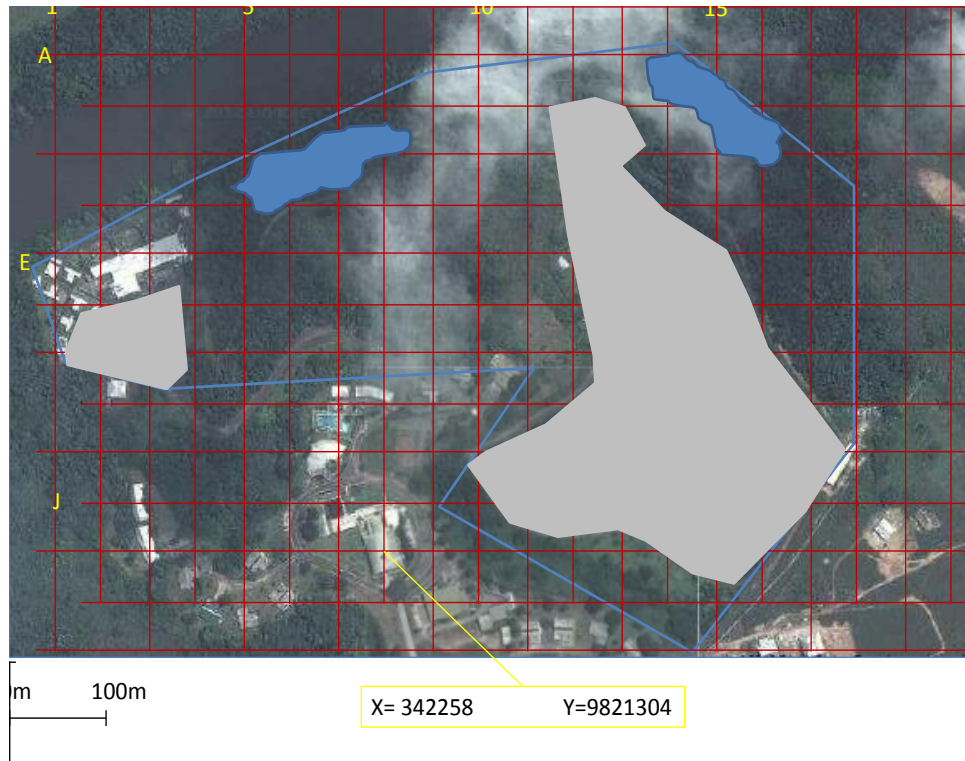
#### **III.1. Sur le terrain**

##### **III.1.1. Géoréférencement des points de capture de rongeurs**

La détermination des coordonnées des points de capture a été faite avec un GPS (CSX60, Garmin, Taiwan, Chine), combiné aux applications GOOGLE EARTH, MAPSOURCE et EXCEL ; ainsi que les logiciels DNRGPS et CONVERS 3 selon la méthode suivante :

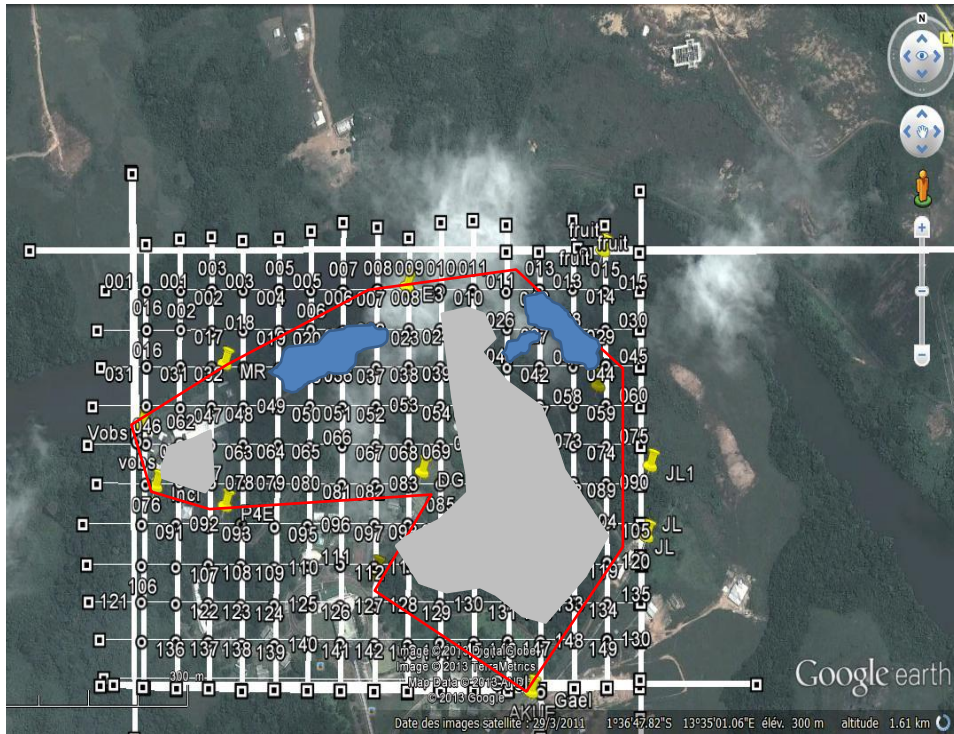
Dans la zone de capture, on a relevé avec le GPS les coordonnées de deux points de référence suffisamment éloignés, puis dans MAPSOURCE, à partir du premier point,

tracé des parallèles de 50 m d'intervalle, puis d'autres parallèles également de 50 m d'intervalle, à partir du second point et perpendiculaires aux premières. On se retrouve avec un quadrillage dont les points sont à équidistance de 50 m. Ensuite, la grille est transférée sur GOOGLE EARTH.



**Figure 19 :** Quadrillage de la zone de capture avec le logiciel MAPSOURCE  
(Source : Otoro)

Sur la carte GOOGLE EARTH, il faut identifier la zone de capture et éliminer les points qui n'y font pas parti, puis éliminer les points situés dans des zones non praticables (enclos, routes, volières, marécages...); enfin, il faut relever les points restants et leurs coordonnées GPS. La liste des points et leurs coordonnées sont transférées dans le GPS pour le marquage sur le terrain et le traçage des trajets en forêt.



**Figure 20 : Détermination des points de capture avec l’application GOOGLE EARTH (Source : Otoro)**

Ensuite il faut connecter le GPS au logiciel DNRGPS pour copier la liste des coordonnées puis la transférée sur Excel. Le logiciel DNRGPS permet de trier les informations retenu par le GPS pour permettre leur traitement sur EXCEL. Pour le traitement des données, Excel permet de modifier des informations parasites pour obtenir une liste définitive des points de capture et leurs coordonnées. Une fois la liste finalisée, elle est réintégrée au GPS, d’où la nécessité du logiciel CONVERS 3 qui permet de reconverter ces coordonnées après leur passage sur GOOGLE EARTH.

Enfin, sur CONVERS 3, il faut effectuer des modifications sur les coordonnées GPS en fonction du format (changer le N et le E en + et – pour le format world geodetic system 1984) pour qu’elles puissent être reconverti. Ce qui nous a permis d’obtenir la répartition des points de la figure 21.





**Figure 21** : Répartition des points de capture de rongeurs au Centre De Primatologie (Source : Otoro)

### III.1.2. Capture des rongeurs

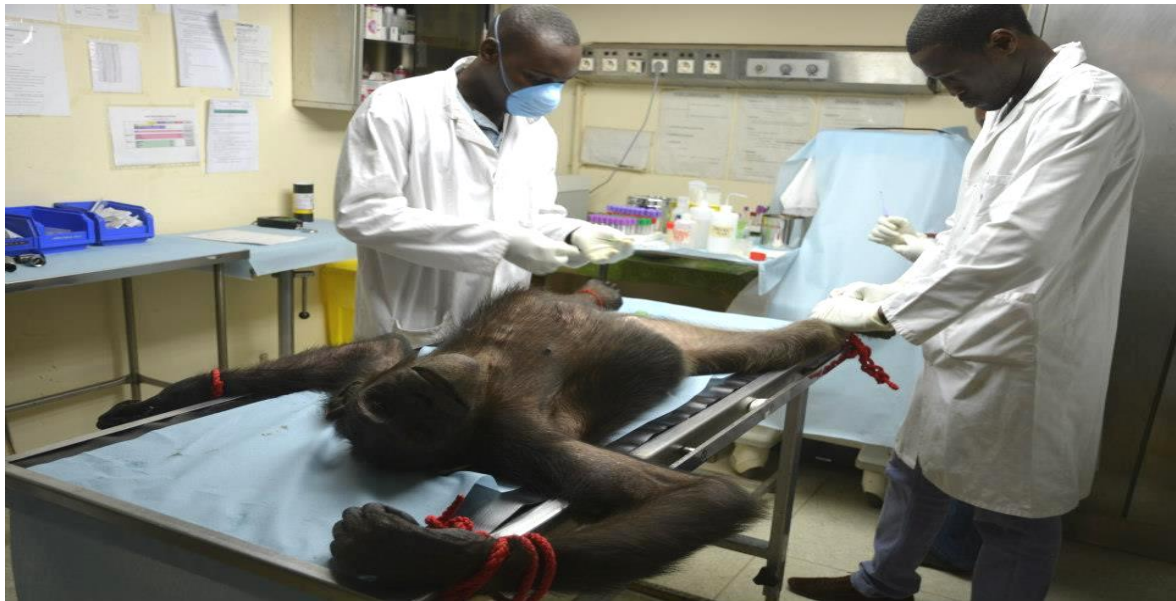
La phase de détermination des coordonnées terminée, nous avons procédé au déploiement des pièges aux endroits identifiés. Deux types de pièges à déclenchements automatiques ont été utilisés: Sherman et Tomahawk. Ces deux types de pièges sont couramment employés pour la capture des petits mammifères terrestres (**Clifford et al., 2011**).

Chaque piège était appâté avec une noix de palme ou une banane entre 8h30 et 9h30 durant les périodes de capture et, relevé le matin à la même période puis redéposé dans l'après-midi en cas de succès de capture. Après la capture, les animaux étaient conservés dans les pièges et transporté jusqu'au laboratoire du CDP pour procéder à l'identification de l'espèce.

L'identification des espèces de rongeur a été faite sur la base de caractères morphologiques clé pour la détermination des petits rongeurs du Gabon (**Duplantier et Granjon, 1993 ; Duplantier, 2011**).

### III.1.3. Capture des primates non humains

Les primates non humains ont été capturés lors des contrôles sanitaires annuels. Ils sont identifiés par des numéros tatoués sur les cuisses ou sur la poitrine pour certains, et par des boucles numérotés pour d'autres. Pour l'immobilisation en vue du contrôle sanitaire, les animaux ont été anesthésiés par le biais de fléchettes anesthésiques mises sous pression et propulsées au moyen d'une sarbacane. La molécule utilisée étant la kétamine, à la dose de 1ml pour 10kg, soit 0.1 ml/ Kg.



**Figure 22 : Prélèvement de sang sur un PNH (Photo : Otoro)**

## III.2. Au laboratoire

### III.2.1. prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins sur les primates non humains ont été effectués lors des contrôles sanitaires annuels. Le prélèvement était effectué au niveau de la veine fémorale, sur tube à anticoagulant (EDTA). La quantité de sang à prélever par tube était fonction du poids de l'animal.

Chez les rongeurs, après capture ils ont été euthanasiés avec du chloroforme. Les prélèvements ont été effectués directement en intracardiaque après ouverture de la

cage thoracique avec une seringue à insuline (pour recueillir le maximum de sang possible) et transvasés ensuite dans un tube à anticoagulant (EDTA).



**Figure 23** : Prélèvement de sang sur un rongeur (Photo : Otoro)

Les données relatives à chaque individu étaient notifiées sur des fiches de capture individuelles (Annexe 2) en plus de tableaux Excel créés pour la circonstance. Dans ces tableaux étaient enregistrées les coordonnées GPS de chaque point de capture, l'espèce et les résultats d'analyse de chaque individu.

### **III.2.2. Diagnostic moléculaire**

#### **Extraction d'ADN**

L'extraction de l'ADN s'est effectuée à partir du sang total à l'aide du Kit commercial Q1Amp DNA Blood AND Tissue (QUIAGEN, hilden, Allemagne). Pour chaque individu, l'extraction s'est déroulée de la manière suivante : dans un tube de 1,5ml, nous avons mis 20µl de protéinase K puis ajoutons 200µl de sang décongelé. Ensuite nous avons ajouté 200 µl de tampon AL. Après avoir bien mélangé en vortexant par pulsion, les tubes sont mis en incubation dans un bain-marie à 56°C pendant 15 minutes. Puis, l'on y ajoute 200µl d'éthanol frais (96-100%) et vortexer par pulsion pour précipiter l'ADN. Le mélange est transféré par la suite dans une

mini-colonne montée sur un tube de 2 ml, puis centrifugé à 8000 rpm pendant une minute. Après centrifugation récupéré la mini-colonne et la placer sur un nouveau tube de 2 ml puis, déposer 500µl de tampon AW1 suivi d'une seconde centrifugation à 800rpm pendant une minute. Récupérer de nouveau la mini-colonne, et la monter sur un nouveau tube de 2 ml et y ajouter 500µl de tampon AW2 puis centrifuger à 14 000rpm pendant 3minutes. A la suite de celle-ci, la mini-colonne est montée sur un tube de 1,5ml, et l'on y ajoute 60µl de tampon AE puis centrifuger une dernière fois à 8000 rpm pendant une minute pour l'éluion de l'ADN. Les tubes sont stockés à -20°C.

Le diagnostic par PCR des deux types de parasites (*Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp*) a été réalisé à partir du même échantillon d'ADN pour chaque individu.

### **Polymerase Chain Reaction ou PCR**

La Polymerase Chain Reaction ou PCR est une technique de répliation ciblée *in vitro*. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. C'est généralement suffisant pour une utilisation ultérieure. Le principe et les conditions expérimentales qui en découlent sont très simples. Il s'agit de réaliser une succession de réactions de répliation d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3' pointent l'une vers l'autre. Les amorces ou « primers » définissent alors, la séquence amplifiée.

Pour réaliser ce travail, nous avons utilisé une PCR nichée sur le gène cytochrome B qui permet de détecter tous les individus positifs aux *Plasmodium sp* et une PCR direct ciblant la région ITS1 pour les individus positifs aux *Trypanosoma sp*.

#### **III.2.2.1. Diagnostic de *Plasmodium sp***

##### **III.2.2.1.1. Amplification de l'ADN par PCR nichée**

La PCR nichée ou PCR nested est une amplification en deux étapes successives, avec deux couples d'amorces différentes, le second liant des séquences situées à l'intérieur du premier amplicon. Cette technique était initialement utilisée pour réduire le risque

de contamination. Elle est maintenant très utilisée par les virologues et les parasitologues. Le premier couple d'amorces est conçu pour pouvoir accrocher les quelques parties stables du génome parasitaire ou viral, le second permet d'identifier le sous type et de mieux apprécier le résultat. Le principe est schématiquement représenté en annexe.

#### III.2.2.1.1.1. PCR nichée sur le gène cytochrome B

L'infection à *Plasmodium* est vérifiée par amplification du gène cytochrome B (*cyt B*) du parasite. Le choix de ce gène pour le diagnostic n'est pas fortuit puisqu'il est utilisé pour établir des liens de parenté entre individu (phylogénie), du fait de sa conservation d'un individu à un autre. Cette amplification par PCR nichée a été réalisée avec les couples d'amorces Forward et Reverse DW2\_F/DW4\_R qui génèrent un fragment d'environ 1253pb en première PCR et, CYTB1\_F/CYTB2\_R qui, en deuxième PCR produisent un fragment d'environ 938pb (Farrugia et al., 2011 ; Jirku et al., 2012).

Les séquences des amorces que nous avons utilisées sont :

DW2\_F : 5'-TAATGCCTAGACGTATTCCTGATTATCCAG-3'

DW4\_R : 5'-TGTTTGCTTGGGAGCTGTAATCATAATGTG-3'

CYTB1\_F: 5'-CTCTATTAATTTAGTTAAAGCAC-3'

CYTB2\_R: 5'-ACAGAATAATCTCTAGCACC-3'

Lorsqu'il y a amplification du gène *cyt B*, l'individu est considéré comme infecté par une quelconque souche de *Plasmodium*. Les étapes classiques de la PCR (dénaturation, hybridation, élongation) ont été réalisées par un thermocycleur Esco Health care Swift. Maxpro. Le premier tour d'amplification s'est effectué dans un milieu réactionnel réalisé à partir du kit Qiagen Multiplex PCR et, constitué de 12,5µL Mix multiplex PCR (composition non décrite) ; 2,5µL de solution Q (Qiagen) ; 0,2µL de chaque amorces (DW2/DW4) à 10pmol/µL ; 5,6µL d'eau stérile (fournit dans le kit) et 4µL de matrice d'ADN pour un volume final de 25µL. En complément des réactions de PCR préparées pour les différentes matrices d'ADN, deux tubes

supplémentaires sont ajoutés : un tube faisant office de témoin Positif, constitué d'une matrice d'ADN dont on connaît le statut d'infection ; un tube dit témoins négatif dans lequel il n'y a pas de matrice d'ADN. Comme témoin positif, nous avons utilisé la matrice d'ADN d'un gorille nommé Oudiki, du programme de protection des gorilles (PPG). Les conditions d'amplification sont les suivantes : 95°C pendant 5 minutes, [30secondes à 94°C ; 1minute et 30 secondes à 60°C ; 1minute et 30 secondes à 72°C] x 35 cycles et enfin, 10 minutes à 72°C. Le deuxième tour de PCR, s'effectue également dans un milieu réactionnel d'un volume total de 25µL et est composé de : 2,5 µL de tampon10X ; 1,25 µL de chlorure de magnésium(Mgcl2) ; 1,25 µL d'amorces (CYTB1/CYTB2) à 10 pmol/µl ; 2,5µl de dNTP dilué au 10<sup>ième</sup> ; 0,1µL de TAQ polymérase Invitrogen ; 15,15 µL d'eau stérile (Qiagen) et 1 µL de produit de PCR1 définit plus haut. Les étapes de PCR se déroulent sous les conditions suivantes : 5 minutes à 94°C, [30 secondes à 94°C ; 30 secondes à 45°C ; 1 minute et 30 secondes à 72°C] x 35 cycles, 10 minutes à 72°C puis 10 minutes à 10°C.

#### **III.2.2.1.1.2. Migration des produits de PCR sur gel d'agarose**

Les produits de PCR2 obtenus ont été faits migrés sur un gel d'agarose à 1.2% du Tris Acétate EDTA (TAE).

Pour la préparation du gel,

- Peser 1,2 g d'agarose auquel il faut ajouter 100 ml de TAE 1X et bien homogénéiser
- Mettre le mélange au micro-ondes pendant 2 minutes 30 secondes et laisser refroidir.
- Laisser polymériser environ 20 minutes.
- Placé le gel dans une cuve à électrophorèse puis, déposer 18µL de chaque échantillon d'ADN mélanger à 2µL de EZ vision (réactif fluorescent non mutagène et non toxique qui, permet la visualisation instantanée des bandes d'ADN lors de l'illumination UV de gels d'agarose.)



- Déposer 4 µL de DNA ladder 100 pb (marqueur de poids moléculaire) et laisser migrer pendant 30 minutes à 120 volts.
- Passer les 30 minutes de migration, placer le gel d'agarose 1.2% sur une plaque à ultra-violet (Vilber Loumat) transilluminateur émettant des ondes de 312 nm et connecté à un appareil photo, un écran et une imprimante, pour permettre la visualisation des produits de PCR par fluorescence.

### III.2.2.2. Diagnostic de *Trypanosoma sp*

#### III.2.2.2.1. PCR à temps réel ciblant la région ITS1

Cette technique PCR cible le gène codant pour la petite sous-unité ribosomique afin d'identifier et de différencier les espèces de trypanosomes africains cliniquement importants et quelques sous-espèces (Cox et al., 2005). La méthode est plus économique, simple et sensible que les méthodes actuelles de dépistage, et donne des informations plus détaillées, ce qui en fait un outil viable pour les études épidémiologiques à grande échelle (Cox et al., 2005).

L'infection à *Trypanosoma sp* est vérifiée par amplification des régions ITS1 du gène codant pour la petite sous-unité ribosomique du parasite. Le choix de cette méthode est lié au fait que les ITS1 et ITS2 ont démontrés être précieux pour la classification phylogénétique d'espèces étroitement liées notamment les piroplasmes et leurs sous-espèces et les trypanosomes (Fazaeli et al., 200). La région ITS1 a été utilisée avec succès comme cible pour la détection des trypanosomes basée sur la PCR (Njiru et al., 2005). Ces auteurs ont documenté la longueur du produit PCR spécifique correspondant à chacune des espèces de *Trypanosoma*, qui était la base de la différenciation entre les espèces de *Trypanosoma*. Par exemple, *T. congolense* de savane, un produit PCR ITS1 est de 700 pb, 400 pb pour *T. simiae* et 250 pb pour *T. vivax*. Le produit de *T. evansi* et *T. brucei* sous-espèce était de la même taille, 480 pb (Cox et al., 2005 ; Njiru et al., 2005).

Nous avons réalisé cette amplification avec les couples d'amorces ITS1\_BR et ITS1\_CF dont les séquences nucléotidiques sont les suivantes :

ITS1\_BR : 5'-TTGCTGCGTTCTTCAACGAA-3'

ITS1\_CF : 5'-CCGGAAGTTCACCGATATTG-3'

Les étapes classiques de la PCR (dénaturation, hybridation, élongation) ont été réalisées par un thermocycleur Esco Health care Swift. Maxpro. L'amplification s'est effectué dans un milieu réactionnel réalisé à partir du kit Qiagen Multiplex PCR et, constitué de 2µL de tampon 10X ; 2µL de chlorure de magnésium (MgCl<sub>2</sub>) ; 0,24µL d'amorces (ITS1\_BR et ITS1\_CF) à 10pmol/µl ; 2µl de dNTP dilué au 10<sup>ième</sup> ; 0.3µL de TAQ polymérase Invitrogen ; 12,22µL d'eau stérile (Qiagen) et 4µL de matrice d'ADN pour un volume final de 23µL. en complément des réactions de PCR préparées pour les différentes matrices d'ADN, deux tubes supplémentaires sont ajoutés : un tube faisant office de témoin Positif, constitué d'une matrice d'ADN dont on connaît le statut d'infection ; un tube dit témoins négatif dans lequel il n'y a pas de matrice d'ADN. Comme témoin positif, nous avons utilisé la matrice d'ADN d'un chien trypanosome positif apporté en consultation dont le diagnostic a été confirmé par le frottis et la PCR.

Les conditions du programme de PCR utilisé sont les suivantes : 5minutes à 94°C, [1minute à 95°C ; 1minute à 60°C ; 1minute 72°C] x 35 cycles, 10minutes à 72°C puis 5minutes à 4°C.

#### **III.2.2.2.2. Migration des produits de PCR sur gel d'agarose**

Les produits de PCR obtenus ont migrés sur un gel d'agarose à 1,2% du Tris Acétate EDTA (TAE) tout comme avec les *Plasmodium*.

### **III.3. Analyses statistiques**

La comparaison des effectifs et des prévalences a été faite à l'aide du logiciel de statistique R version **R.7.2.2**. Au seuil de 5%, un résultat est considéré comme significatif lorsque la p value est inférieur à 0,05%. Pour des échantillons de petites tailles, nous utilisons le test exact de Fisher.



## Chapitre II : Résultats et Discussion

### I. Résultats

#### I.1. Sur le terrain

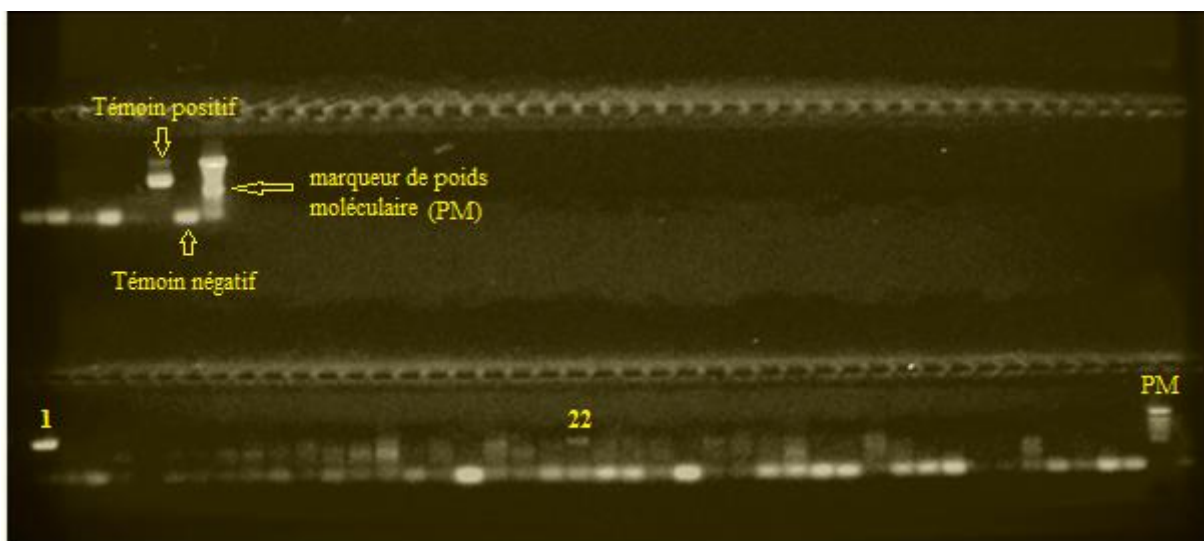
Au total 54 pièges à rongeurs ont été posés sur une période de 5 mois, et 268 rats de 5 espèces différentes ont été capturés. 225 PNH du CDP ont été prélevés, au cours du contrôle sanitaire annuel, ainsi que 4 PNH du PPG et 17 du parc de la Lekedi soit un total de 246 PNH. Sur l'ensemble des trois sites 37 personnes ont acceptées de participer à l'étude parmi lesquelles 17 du CDP, 15 du parc de la Lekedi et 5 du PPG.

#### I.2. Au laboratoire

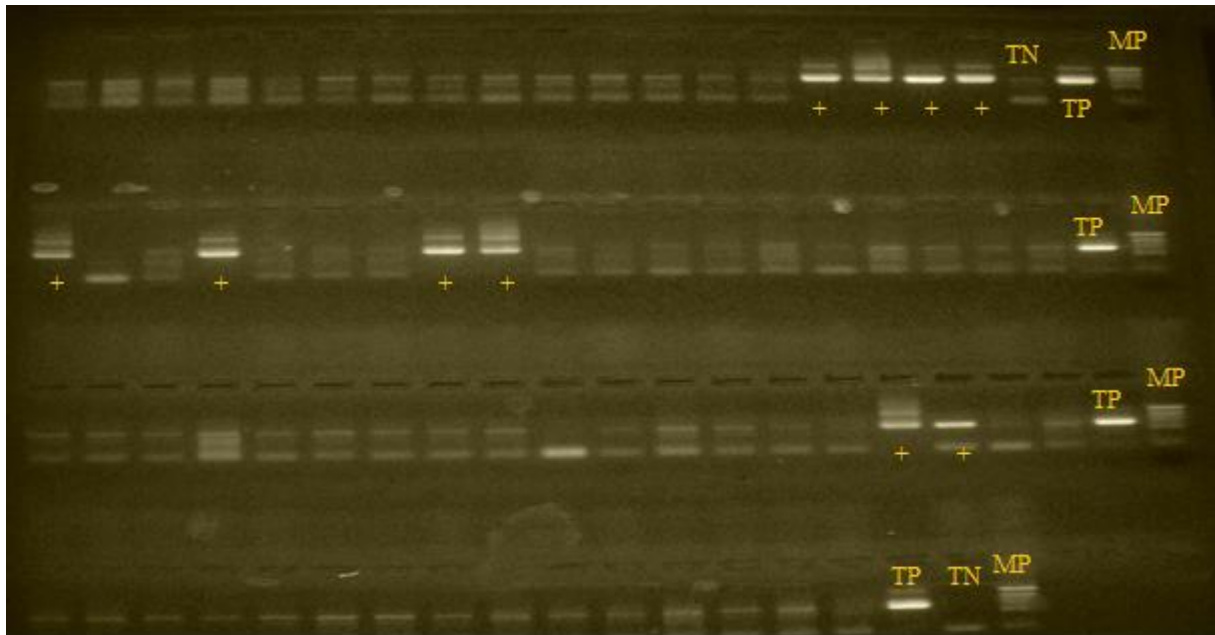
##### I.2.1. Sur l'ensemble de sites

##### I.2.1.1. Recherche de *Plasmodium sp* chez les Primates Non Humain:

Dans l'ensemble des trois (3) sites, nous avons recueillis et traités les prélèvements sanguins de 246 individus. Sont considérés comme positifs les individus pour lesquels les bandes de d'amplification sur le gel sont autour de 936 paires de bases. Ainsi, dans notre population de primates non humains, quinze (15) sujets ont été contrôlés positif soit un pourcentage de 6.09%. Pour illustration, les échantillons numéro 1 et 22 sont ainsi considérés comme positifs (**Figure 24**).



**Figure 24** : Résultat de PCR nichée PNH



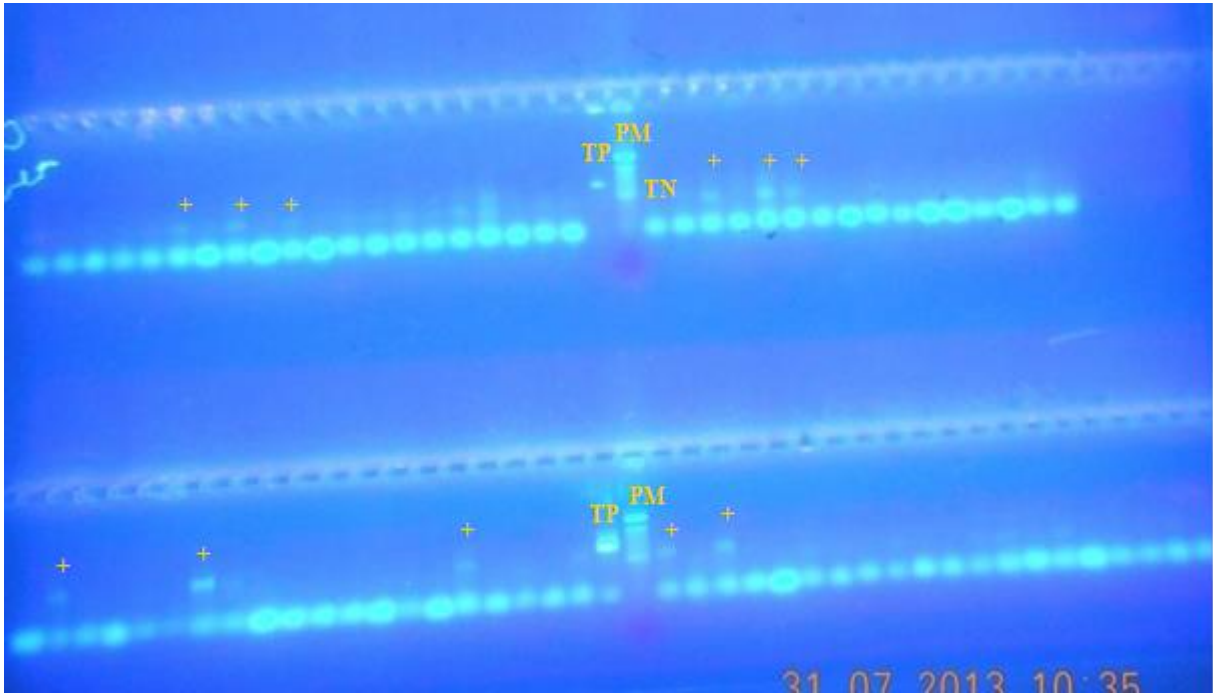
TN : Témoin Négatif ; TP : Témoin Positif ; MP : Marqueur de Poids moléculaire ; + : Positif

### Figure 25 : Résultat PCR nichée PNH (2)

La figure 25 montre des résultats de PCR d'échantillons de gorilles (*Gorilla gorilla*) et de chimpanzés (*Pan troglodyte*). Au total, sur les 246 échantillons de PNH, 15 se sont révélés positifs (6,09%).

#### I.2.2. Recherche de *Plasmodium sp* chez les rongeurs

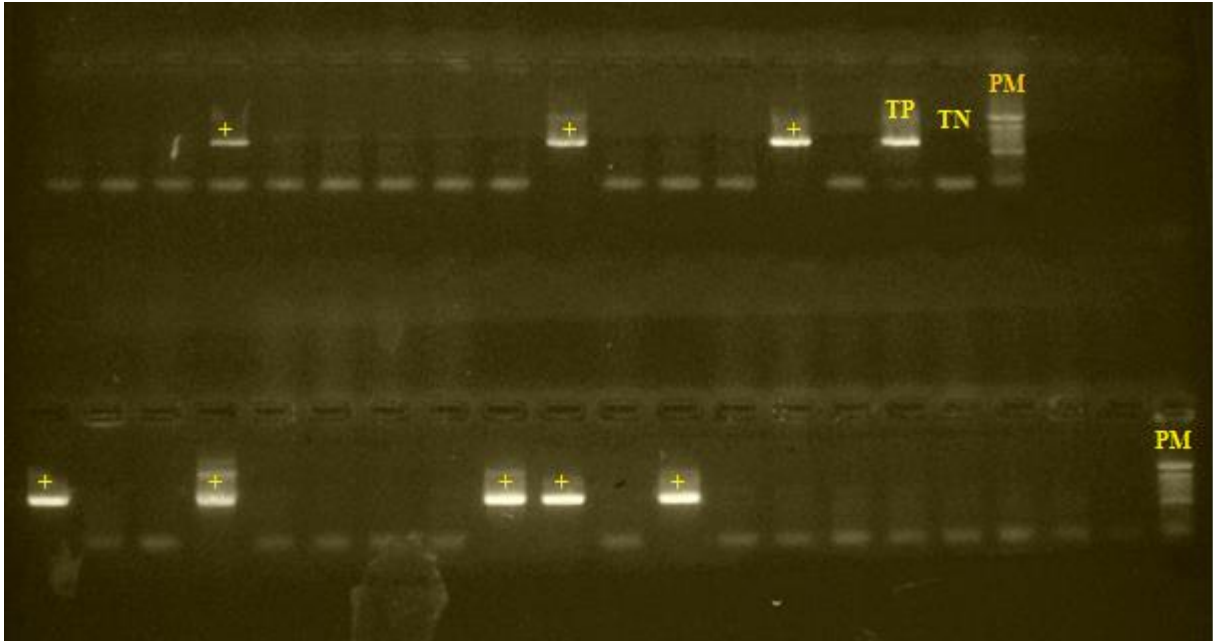
Les échantillons dont les bandes d'amplifications sont autour de 936 paires de base sont considérés comme positifs. Ainsi, sur un total de 268 échantillons, 17 ont été amplifiés soit un pourcentage de 6,34 % (Figure 26).



**Figure 26 :** Résultat de PCR nichée de rongeurs

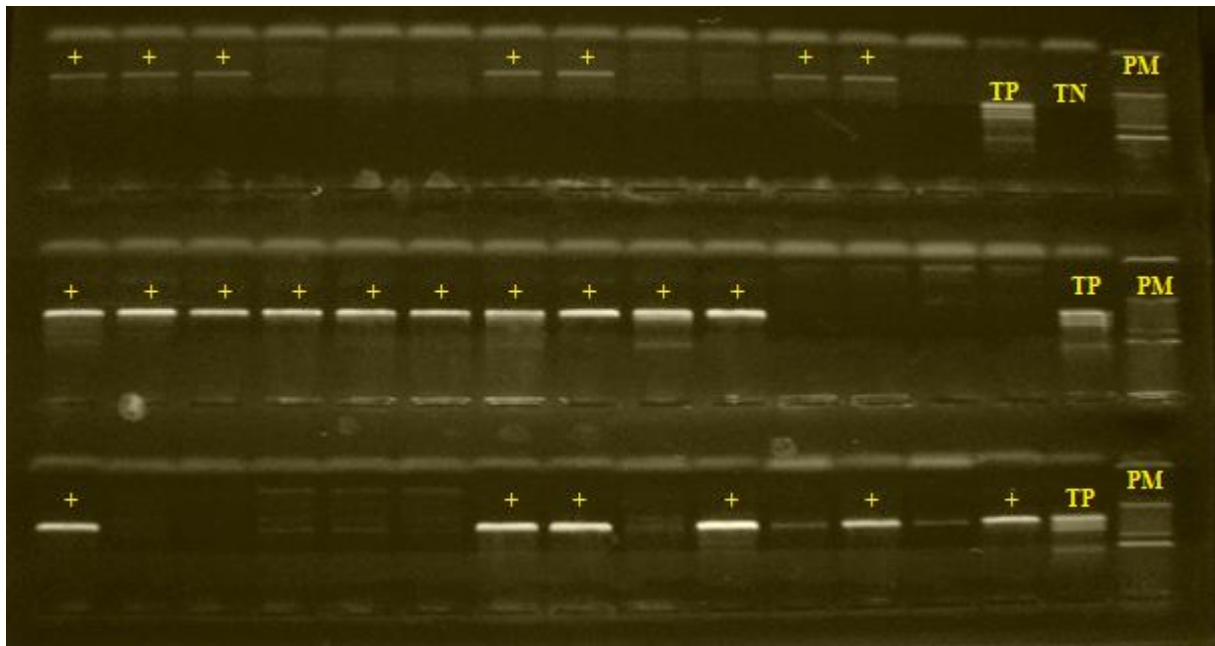
**I.2.3. Recherche de plasmodium dans la population humaine**

Sept (7) individus ont positivement été amplifiés sur 35 d'où une prévalence de 20% (Figure 27).



**Figure 27 :** Résultat de PCR nichée hommes

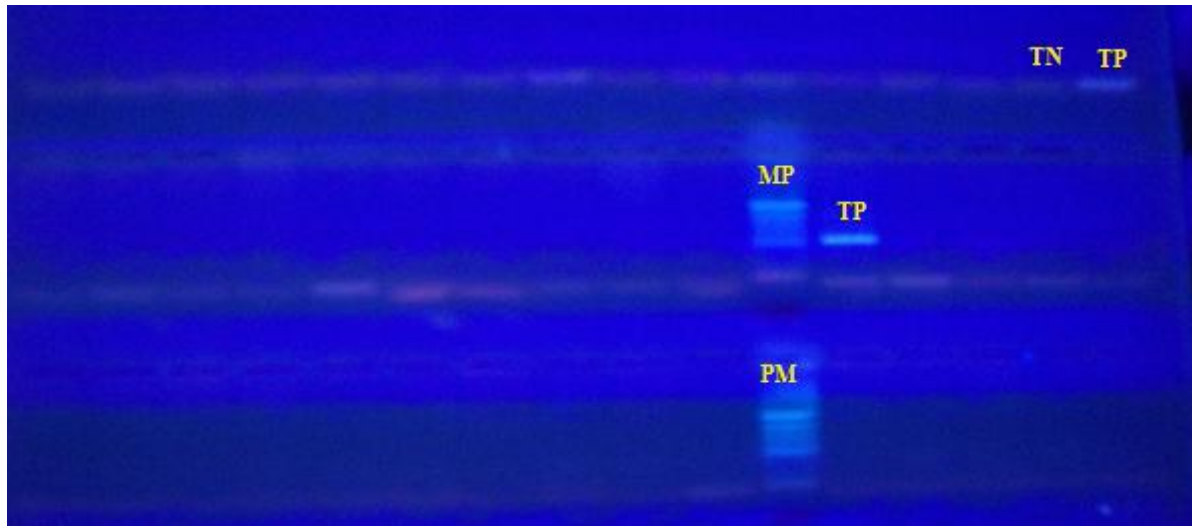
Sur l'image ci-dessous (Figure 28), on constate que certains individus initialement contrôlés positifs ne sont plus amplifiés dans cette PCR de contrôle.



**Figure 28** : Résultat PCR de confirmation des individus positifs aux différentes PCR réalisées.

### **I.3. PCR *Trypanosoma***

Sur l'ensemble de la cohorte analysée, toutes les PCR réalisées n'ont révélées aucun individu positif dans les trois populations d'études. L'affichage du témoin négatif, du marqueur de poids moléculaire et du témoin positifs (*Trypanosoma congolense*) qui apparait à la taille attendue prouvent le bon fonctionnement de la PCR.



**Figure 29 :** Résultat de PCR *Trypanosoma sp*

Pour une vue générale, Les résultats de la recherches de *Plasmodium sp* et de *Trypanosoma sp* ont été consigné dans le tableau ci-après.

**Tableau III :** Prévalence générale de *Plasmodium sp* au sein des différentes populations d'étude.

	Négatifs	Positifs	Total	Prévalence
<b>Hommes</b>	<b>28</b>	<b>7</b>	<b>35</b>	<b>20%</b>
<b>PNH</b>	<b>231</b>	<b>15</b>	<b>246</b>	<b>6,09%</b>
<b>Rongeurs</b>	<b>251</b>	<b>17</b>	<b>268</b>	<b>6,34%</b>

Pour les infections de type plasmodiales, Dans l'ensemble de nos sites d'études, la population humaine est significativement plus infectée que les primates Non Humain et les rongeurs ( $khi^2 = 9,43$  et  $p = 8,946.10^{-3}$ ). On a aucune différence significative entre les rongeurs et l'ensemble formé par les primates humains et non humains ( $khi^2 = 0,26$  et  $p = 0,6092$ ). La comparaison entre primates montre que les humains sont significativement moins infectés que les primates Non Humain ( $khi^2 = 6,39$  et  $p = 0,01146$ ).

#### I.4. Par site d'étude

- **Centre de Primatologie**

**Tableau IV :** Prévalence de *Plasmodium sp* au sein des différentes populations d'étude du Centre de Primatologie

	Négatifs	Positifs	Total	Prévalence
<b>PNH</b>	<b>212</b>	<b>2</b>	<b>214</b>	<b>1,32%</b>
<b>Rongeurs</b>	<b>251</b>	<b>17</b>	<b>268</b>	<b>6,34%</b>
<b>Hommes</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>17</b>	<b>23,53%</b>

Au Centre De Primatologie, en ce qui concerne les infections de type plasmodiales, les primates Non Humain sont significativement moins infectés que la population humaine et les rongeurs ( $p = 3, 838.10^{-5}$ ). De même, l'ensemble formé par les primates humains et non humains est significativement moins infecté que les rongeurs et ( $p = 5, 617.10^{-7}$ ). La comparaison entre primates montre que les primates Non Humain sont significativement moins infectés que les humains ( $khi^2 = 8, 5$  et  $p = 0,0035$ ).

- **Parc de la LEKEDI (Bakoumba)**

**Tableau V :** Prévalence de *Plasmodium sp* au parc de la Lekedi.

	Négatifs	Positifs	Total	prévalence
<b>PNH</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>58,82%</b>
<b>Hommes</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>15</b>	<b>13,33%</b>

Au Parc de la Lekedi, la population humaine est significativement moins infectée que les PNH ( $khi^2 = 5, 2288$  et  $p = 0,022$ ).

- **Programme de Protection des Gorilles**

**Tableau VI :** Prévalence de *Plasmodium sp* au sein des différentes populations d'étude du Programme de Protection des Gorilles.

	Négatifs	Positifs	Total	Prévalence
<b>Hommes</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>20%</b>
<b>PNH</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>50%</b>

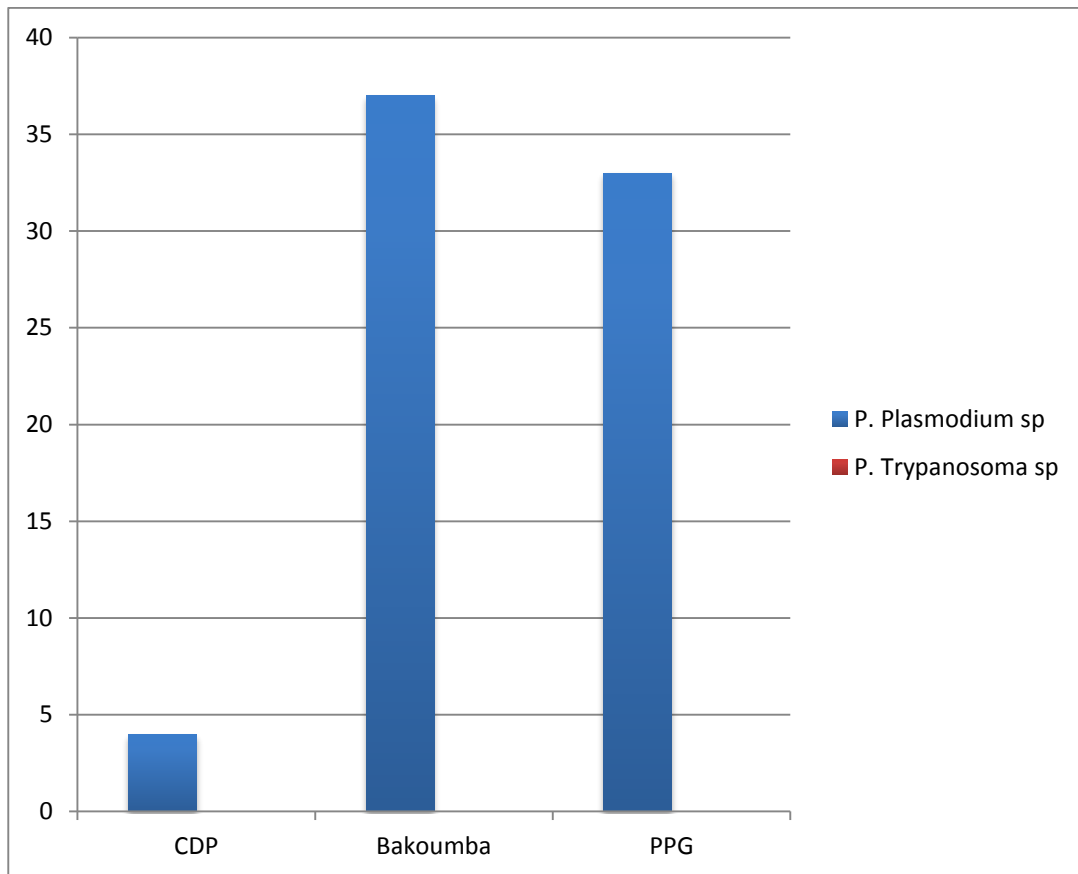
Au PPG, On a aucune différence significative entre la population humaine et les PNH, principalement des gorilles (*Gorilla gorilla*) ( $p = 0,8125$ ).

- **Prévalence générale inter-sites**

**Tableau VII :** Prévalence générale de *Plasmodium sp* au sein des différentes sites d'étude.

	Positifs	Négatifs	Total	<i>P. Plasmodium sp</i>
<b>CDP</b>	<b>23</b>	<b>476</b>	<b>499</b>	<b>4,83%</b>
<b>Bakoumba</b>	<b>12</b>	<b>20</b>	<b>32</b>	<b>60%</b>
<b>PPG</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>50%</b>

Ainsi il ressort que les individus du Parc de la Lekedi sont significativement plus infectés en *Plasmodium sp* que les individus du PPG et ceux du CDP ( $\chi^2 = 59,403$  et  $p = 1,26.10^{-13}$ ).



**Figure 30** : Variation de la prévalence de *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp* en fonction du site.



## **II. Discussion**

### **II.1. Echantillonnage**

#### **- Situation administrative des sites**

Notre étude a été réalisée sur trois (3) sites aux statuts administratifs différents. Le Centre de Primatologie qui est logé dans une enceinte péri urbaine fortement anthropisée, le projet de protection des gorilles (PPG) logé au sein du Parc des plateaux Batéké avec une activité humaine faible limitée aux seuls employés et le Parc de la Lekedi à Bakoumba qui, comme son nom l'indique, reste une aire protégée mais avec une activité humaine moyenne limitée aux employés et à une fréquentation touristique. Si pour le premier précité (CDP), la réalisation de captures de rongeurs ne demandait que l'autorisation du comité d'éthique, il n'était cependant pas possible d'organiser ces captures à Bakoumba et au PPG du fait de leur statut administratif qui les érige en parc. De ce fait, les captures de rongeurs n'ont été réalisées qu'au CDP réduisant sans doute un hôte intermédiaire possible entre PNH et Humains. Toutefois, le fait qu'au sein de ces sites (PPG et Bakoumba), les primates sont directement en contact avec les humains qui les nourrissent et s'en occupent au quotidien, on peut donc « à priori » minimiser le rôle des rongeurs sur ces deux sites. A l'opposée, la situation est toute différente au CDP où certains animaux sont en volières et seuls les rongeurs fréquentent aussi bien les volières que les bâtiments. Pour évaluer le possible impact de la non prise en compte des rongeurs au PPG et Bakoumba, il est prévu dans la suite du projet, de déterminer par modélisation, si la prise en compte de cette donnée aurait significativement changé les résultats.

#### **- Répartition spatiale des rats au CDP**

De par son organisation spatiale, le centre de primatologie est réparti en une zone forestière abritant les enclos de primates, une zone marécageuse autour des enclos et une zone abritant les bureaux, volières et surtout une cuisine pour la cuisson de gâteaux à base de farine de soja utilisés comme source de protéines pour les primates. Cette zone des bâtiments est également dotée d'un sous-sol véritable galerie de rongeurs qui se nourrissent de débris de gâteaux faisant de cette partie du centre une région de forte concentration de rongeurs. Or, pour respecter les recommandations

méthodologiques qui voudraient que les pièges soient placés à équidistance les uns des autres pour que chacun ait la même probabilité de capture, nous ne pouvions placer plus de pièges dans le sous-sol qu'ailleurs.

#### - **Considérations éthiques et effectifs**

De par sa complexité car mêlant rongeurs, PNH et Humains, la réalisation de ce projet était assujettit à certaines autorisations à caractère éthique notamment. Ainsi, une fois monté, la première étape du projet était de le soumettre au comité nationale d'éthique local qui bien qu'ayant donné son autorisation, nous a fait quelques recommandations dont nous avons pris note. Alors que dans notre premier jet nous propositions de placer des puces aux rongeurs afin de distinguer les nouvelles captures des anciennes, il nous a été recommandé compte tenu de la consommation de ces rongeurs par les populations locales riveraines, de ne pas placer les puces au risque de les rendre impropres à la consommation. Puis, les rats n'étant pas menacés ou en voie d'extinction au Gabon, il nous a été recommandé de procéder à l'euthanasié après la réalisation de nos prélèvements. De même, suivant les recommandations du CNER, les prélèvements humains ont été réalisés par les médecins sous forme d'anonymat.

Pour la population humaine, la participation au protocole devrait être volontaire. Ainsi, sur un total de 42 personnes travaillant sur ces sites, seuls 38 ont participés car 4 d'entre eux ayant marqués leurs refus, lié sans doute à l'approche diagnostic que propose notre étude et l'expérimentation humaine. Pour les PNH, les prélèvements étant réalisées lors des contrôles sanitaires annuels notamment (sauf cas ponctuels de diarrhée ou grippe, toux), il est quasiment impossible de capturer la totalité du parc animalier en une saison. Nous avons cependant capturés près de 90% de notre parc animalier lors des contrôles sanitaires. Les faibles effectifs du PPG et Bakoumba sont liés à la taille de ces groupe qui sont déjà limité car les animaux réintroduits retrouvent une vie sauvage ; ce qui explique que seuls les animaux en cours de réapprentissage sont présent sur le site durant le temps nécessaires. On ne peut donc avoir de grands effectifs sur le PPG et Bakoumba mais on peut penser que de grands effectifs amélioreraient nos résultats tant sur la probabilité de trouver des échantillons positif que la diversité de pathogènes qui y circulent.

## II.2. Le laboratoire

Au niveau de la technique de PCR utilisée, il est à regretter que chez les *Plasmodium*, cette technique ne permet pas la différenciation des espèces plasmodiales entre elles. Pour cela, il aurait fallu faire d'autres PCR de différenciation spécifique espèce par espèce en fonction des différentes espèces plasmodiales circulant dans la zone. Mais étant donné le coût et la durée de cette approche, il a été décidé d'opter pour le séquençage direct des produits de PCR qui permet d'obtenir directement les séquences des plasmodiums amplifiés et de les comparer avec les séquences des *Plasmodium* connus à ce jour. Ainsi compte-tenu de la durée de cette étude et les objectifs de notre travail, nous n'aurons pas les résultats sur la nature des espèces diagnostiqués mais ce travail sera effectué dans la suite du projet. Toutefois, deux individus de notre cohorte ont été déjà séquencés confirmant ainsi la fiabilité de nos analyses. En outre la technique de PCR utilisée a révélée chez les rongeurs plusieurs bandes d'amplification en dessous du seuil de positivité attendu, renforçant ainsi la nécessité du recours au séquençage pour la caractérisation de ces individus. Chez les trypanosomes la technique de PCR utilisée était adaptée pour la circonstance car elle permettait la différenciation des espèces de trypanosomes à défaut de renseigner sur les sous types. Mais elle n'a pu être complètement exploitable car aucun individus n'a été contrôlé positif dans les trois sites.

## II.3. Les résultats

### - La circulation générale de *Plasmodium sp*

Chez les humains ayant participé à l'étude, nous avons trouvé une prévalence en *Plasmodium sp* de 20 %, qui se rapproche de celle de **Lekana-Douki et al., (2011)** qui était de 17,9% au Centre Hospitalier de L'Amitié Sino-gabonaise de Franceville. Le paludisme étant endémique au Gabon il est donc normal de retrouver une telle prévalence même chez des adultes ne faisant pas la maladie au moment de l'étude, car ils sont continuellement exposés aux piqûres de moustiques. La prévalence chez les PNH était de 6,1% contre 6,34% chez les rongeurs.

#### - Dans la population des PNH

Au cours de cette étude, il a été trouvé une prévalence générale en *Plasmodium sp* de 7,07% mais cette prévalence ne saurait être interprétée comme telle en raison de la multitude de prévalences d'espèces différentes qu'elle englobe. Considérant ces espèces, il a été trouvé chez les Primates Non Humains une prévalence générale de 6,1% qui également ne peut être pris comme telle car en plus d'englober plusieurs espèces, elle regroupe les prévalences d'espèces en captivité et des espèces en liberté en milieu naturel. Ainsi chez les grands singes en liberté, la prévalence en *Plasmodium sp* était de 57,14% et 25% respectivement chez les Gorilles et les chimpanzés. Ce qui corrobore les résultats de **Liu et al. (2010)** qui montrent que l'infection à Plasmodium est endémique chez les chimpanzés du Nigeria, les chimpanzés du Cameroun centrale et orientale, ainsi que chez les gorilles des plaines de l'ouest. Avec des taux de prévalence estimés allant de 32% à 48% respectivement chez les chimpanzés du Cameroun et du Nigeria (*Pan troglodytes ellioti*) et 34% chez les chimpanzés de l'est (*Pan troglodytes schweinfurthii*). Cependant, ici la prévalence est plus élevée chez les Gorilles, et s'explique par le fait que le contrôle a été réalisé avec des échantillons sanguins, et la majeure partie des études à ce sujet ont été réalisées à partir d'échantillons de fèces. Ce qui contribue à confirmer que pour les études réalisées à partir des crottes par exemple, les taux réels d'infection des Grands Singes en *Plasmodium sp* en milieu sauvage sont susceptibles d'être encore plus élevé, car la détection des plasmodiums dans les selles peut être moins sensible que la détection dans le sang, comme c'est le cas pour les échantillons d'urine et de salive (**Nwakanma et al., 2009**).

#### - Dans la population humaine

Concernant la probable source de l'infection humaine, l'analyse statistique de nos données recommande que l'information soit interpréter a deux niveaux de comparaison. Premier niveau de comparaison : Population globale et population du CDP. Dans une première approche, en considérant notre étude dans son aspect global c'est-à-dire une vue générale, on constate que la population humaine de nos sites d'étude est significativement plus infectés que les rongeurs et les PNH ( $p=8,946.10^{-}$

3). Ce qui laisse supposer que les PNH s'infecteraient « à priori » à partir des rongeurs qui eux seraient infectés à partir des humains. Mais cette approche se soumettrait facilement à la critique tant les rongeurs n'ont pas été pris en compte sur l'ensemble des sites (à l'exception du CDP) et les habitats sont d'autant plus différents d'un site à l'autre allant de l'anthropisme absolue au milieu quasi naturel. Puis, notre approche se limitant à la détermination du genre (*plasmodium sp*), nous ne pouvons conclure sur les cas de transmission inter espèces sachant la diversité de communautés de plasmodium chez ces différents hôtes avec un bon degré de spécialisation du parasite suivant les espèces hôtes. Ces résultats ne peuvent être pris que comme des hypothèses qui seront soumis au séquençage et à la phylogénie pour validation. Pour le CDP On peut penser que les PNH du CDP vivant en captivités en un lieu fixe (enclos et volières) avec des normes d'hygiène acceptable, sont soumis à une pression parasitaire moindre alors que les employés du CDP sont libres de se mouvoir au gré de leur convenance dans l'espace et d'être en contact avec les rongeurs sauvages et semi-domestiques du centre de primatologie suggérant ainsi le sens de la circulation de pathogènes. Aussi, une fois la tâche quotidienne accomplie, les employés regagnent leurs foyers qui pourraient constituer des sources de contamination supplémentaires surtout lorsque l'environnement s'y prête. Les rongeurs, du fait qu'ils vivent pour l'essentiel en forêt, seraient sans doute soumis à une pression plus élevée que les PNH car il s'agit de la forêt équatoriale zone endémique de *Plasmodium*. Cependant, la diversité de plasmodium et la spécialisation de ce modèle pathogènes suivant les espèces d'hôtes demandent que ces hypothèses soient soumis au séquençage et phylogénie pour déterminer les espèces de plasmodium trouvés chez les différents hôtes avant de s'intéresser au sens de transmission.

Deuxième niveau de considération : PPG et le parc de la Lekedi. A la différence des cas ci-dessus, les populations humaines de ces deux sites sont significativement moins infectées que les PNH. Ces comparaisons supposent que dans ces sites, les humains seraient infectés à partir des PNH corroborant ainsi le sens de circulation allant du primate à l'homme (**Prugnolle et al., 2013**). Cependant, si pour le Parc de Bakoumba les animaliers regagnent leur foyer en fin de journée, la situation n'est pas la même pour le PPG ou les employés sont logés dans un camp en plein Parc et ne regagnent

leurs foyer qu'une fois par mois. Ainsi, on s'attendrait en considérant l'hypothèse de contagion à partir des PNH, à ce que les animaliers du PPG soient plus infectés que ceux de Bakoumba. En comparant ces deux sites, on constate en effet que 20% d'animaliers du PPG sont infectés contre 13,3% pour Bakoumba. Cette hypothèse est en adéquation avec les études menées sur l'origine des Plasmodiums humains (**Prugnolle et al., 2013**). En effet sur le site du parc de la Lekedi, **Prugnolle et al. (2013)** ont montrés que *plasmodium vivax* avait pour origine les PNH précisément les gorilles (*Gorilla gorilla*), ainsi donc le séquençage des produits de PCR permettra peut-être de le confirmer.

### **La circulation de *Trypanosoma***

Aucun échantillon sur les trois sites d'étude n'a été contrôlé positif en *Trypanosoma sp* quand bien même nous soyons en zone endémique de glossines, agent vecteur du trypanosome. Toutefois, il faut noter que ce résultat peut s'expliquer du fait qu'aucun foyer de trypanosome n'a été déclaré dans ces zones à ce jour, mais cela n'exclut pas la circulation du parasite surtout que notre témoin positif était un chien provenant d'une localité proche. Toutefois, l'apparition du témoin négatif, du marqueur de poids moléculaire et du témoin positif à la taille attendu sont une preuve de la bonne réalisation de nos analyses. Aussi, les extraits d'ADN utilisés sont les mêmes qui ont révélés des positifs dans le cas du *Plasmodium*. Ainsi donc on ne peut suggérer un sens d'infection pour le model *Trypanosoma sp* dans nos sites d'étude car l'ensemble de résultats est considéré comme négatif.

#### **- La différence de prévalence entre site et entre espèces**

L'étude a montré que les individus du parc de la Lekedi et ceux du PPG étaient significativement plus infectés que les individus du CDP (33,33% à Bakoumba, 37,5% au PPG contre 4,68% au CDP). Cette différence s'explique en grande partie par l'environnement écologique des trois zones d'études. En effet le CPD est situé en zone périurbaine de Franceville avec une présence humaine quotidienne et des normes hygiénique et alimentaire élaborées pour les primates qui sont gardées en captivité. A l'opposer le parc de la Lekedi est situé en zone forestière avec une présence humaine

limité aux touristes et aux quelques employés du parc, avec une multitude d'espèces animales, qui constitue un biotope favorable à la prolifération de moustiques. Le PPG quant à lui est situé dans le parc des plateaux Batéké couvert essentiellement de savanes et quelques couvert forestiers qui à l'instar de la forêt équatoriale, constitue une zone endémique du *Plasmodium*. Ainsi nous pouvons suggérer que le site constitue à priori un facteur de risque pour l'infection à *Plasmodium sp.*

## Conclusion

La biodiversité, associée à la « nature sauvage », est souvent considérée comme une menace pour la santé humaine, la forêt étant perçue comme le lieu de tous les dangers. Bien que les humains ont toujours partagée l'habitat des primates non humains, la dynamique des interactions entre humains et primates a radicalement changé dans un passé récent (**Pipien, 2013**). Comme la densité de la population humaine continue de croître de façon exponentielle, ce qui accélère la réduction et la fragmentation de l'habitat de la faune sauvage, les contacts humains - PNH sont élevés, et la transmission d'agents pathogènes accrue. Comme ailleurs, les rongeurs jouent probablement un des rôles les plus importants en termes de risque de transmission de zoonoses. Depuis 2002 le Gabon vise via la conservation le développement de l'écotourisme avec la création d'un réseau de 13 parcs nationaux ; et pour prendre en compte cette problématique dans les programmes de conservation , compte tenu des liens évolutionnistes et écologiques entre les primates et leurs agents pathogènes, les changements dans les modes d'infection par des agents pathogènes d'origine naturelle qui peuvent alerter sur les menaces potentiellement imminentes pour la conservation et la santé humaine, il a été mis en place au CIRMF un projet de santé publique dont l'objectif principal vise à comprendre à travers l'étude de quelques modèles pathogènes, si les aires de protections favorisent les échanges inter espèces de pathogènes et si oui, quelles sont les incidences moléculaires liées au franchissement de la barrière inter espèces.

C'est dans ce cadre que nous avons réalisé ce travail préliminaire en étudiant deux hémoparasites (*Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp*) au sein des communautés d'hôtes de trois sites de conservation (Centre De Primatologie du CIRMF, Programme de Protection des Gorilles et le parc de la LEKIEDI) de PNH dans la province du Haut-Ogooué au Gabon. Les objectifs spécifiques de ce travail étant de déterminés par diagnostic moléculaire la prévalence de nos modèles parasites par site d'étude et dans notre population générale, de comparer au sein d'une même niche, les différences de prévalences au sein des populations cohabitant et de déterminer si le site constitue un



facteur de risque pour les infections à *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp*. Permettant ainsi de suggérer un sens d'infection des modèles pathogènes considérés.

Afin d'atteindre ces objectifs, nous avons réalisé une étude dans trois (3) sites de conservation de PNH dans la province du Haut-Ogooué au Gabon durant la période de Novembre 2012 à Octobre 2013. Au cours de cette étude, 54 pièges à rongeurs ont été utilisés sur une période de 5 mois, et 268 rats de 5 espèces différentes ont été capturés sur le site du CDP. 246 PNH ont été prélevés, au cours du contrôle sanitaire annuel, dont 225 du CDP ainsi que 4 du PPG et 17 du parc de la Lekedi. La population de PNH était constituée de 150 mandrills (*Mandrillus sphinx*), 38 macaques (*Macaca sinomolgus* et *Macaca fascicularis*), 32 chimpanzés (*Pan troglodyte*), 10 cercopithèques, 9 vervets et 7 gorilles (*Gorilla gorilla*). Sur l'ensemble des trois sites 37 humains ont été prélevés parmi lesquels 17 du CDP, 15 du parc de la Lekedi et 5 du PPG.

Ainsi, 551 prélèvements de sang ont été effectués et analysés par les techniques de PCR nichée et de PCR à temps réelle respectivement pour le diagnostic de *Plasmodium sp* et de *Trypanosoma sp*.

Au terme de ces analyses, nous avons obtenu une prévalence globale de 7.07% en *Plasmodium sp* et aucun individu positif en *Trypanosoma sp*.

Selon les espèces la prévalence en *Plasmodium sp* est répartie comme suit :

- Hommes : 20%
- PNH : 6,09% dont 57,14% gorilles, 25% chimpanzés
- Rongeurs : 6,34%

Selon le site d'étude la prévalence inter-sites en *Plasmodium sp* est répartie comme suit :

- CDP : 4,83%
- PPG : 50%
- Parc de la Lekedi : 60%

L'analyse statistique des résultats montre que d'une manière générale, sur les trois sites de notre étude la population humaine est significativement plus infectée que les PNH et les rongeurs alors qu'il n'existe aucune différence significative entre rongeurs et PNH ( $\chi^2 = 9,43$  et  $p = 8,946.10^{-3}$ ). Au Centre De Primatologie les primates Non Humain sont significativement moins infecté que la population humaine et les rongeurs ( $p = 3,838.10^{-5}$ ).

Ainsi à partir de ces résultats nous avons émis une hypothèse sur le sens de circulation du model *Plasmodium sp* au sein de nos site d'étude. Cette hypothèse suggère que les humains s'infecteraient à partir des PNH qui eux s'infecteraient à partir des rongeurs.

Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, dans la suite du projet il sera question de procéder à l'identification moléculaire des Plasmodium diagnostiqués par le biais du séquençage et l'établissement de l'arbre phylogénétique. Ainsi donc l'analyse de ces résultats couplée à celle des autres modèles pathogènes étudiés en parallèle de ceux-ci permettra de suggérer un schéma général d'infection dans les populations sauvages par modélisation.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Akol, G. and M. Murray. 1986.-** Parasite kinetics and immune responses in efferent prefemoral lymph draining skin reactions induced by tsetse-transmitted *Trypanosoma congolense*. *Veterinary parasitology*, 1986. **19(3)**: p. 281-293.
2. **Alano, P. and R. Carter. 1990.-** Sexual differentiation in malaria parasites. *Annual Reviews in Microbiology*, 1990. **44(1)**: p. 429-449.
3. **Altizer, S., Thrall, PH, and J.L. Gittleman. 2003.-** Social organization and parasite risk in mammals: integrating theory and empirical studies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2003: p. 517-547.
4. **Bailey, J. and D.H. Smith. 1992.-** The use of the acridine orange QBC® technique in the diagnosis of African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1992. **86(6)**: p. 630.
5. **Bass, C.C. and F.M. Johns. 1912.-** The cultivation of malarial plasmodia (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*) in vitro. *The Journal of experimental medicine*, 1912. **16(4)**: p. 567-579.
6. **Bray, R, 1958.-** Studies on Malaria in Chimpanzees VI. *Laverania Falciparum*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 1958. **7 (1)**: p. 20-24.
7. **Chomel, B.B., A. Belotto, and F.X. Meslin. 2007.-** Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. *Emerging infectious diseases*, 2007. **13 (1)**: p. 6.
8. **Clausen, P.-H., I. Sidibe., A. Bassinga and X. Richard. 1993.-** Pathogenesis and pathology of African trypanosomosis in Baoulé, N'Dama/Baoulé cross bred and Zebu cattle in Burkina Faso. I: Clinical performance under high natural tsetse challenge. *Tropical medicine and parasitology*, 1993. **44 (2)**: p. 99-107.

9. **Cleaveland, S., M. Laurenson, and L. Taylor. 2001.-** Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 2001. **356** (1411): p. 991-999.
  
10. **Coatney, G.R., Collins, W.E., Warren, M.W et Contacos, P.G. 1971.-** The primate malarias., 1971. *44* (2): p 33-35
  
11. **Cuisance, D., Itard, J., Desquesnes, M., Frézil, JL et de La Rocque, S. 2003.-** Trypanosomoses, épidémiologie. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail Europe et Régions chaudes. Londres-Paris-New York: Lavoisier, 2003: p. 1627-1650.
  
12. **Culleton, R.L., T. Mita., M. Ndounga and H. Unger. 2008.-** Failure to detect *Plasmodium vivax* in West and Central Africa by PCR species typing. *Malaria journal*, 2008. *7*(1): p. 174.
  
13. **Daszak, P., A.A. Cunningham, and A.D. Hyatt. 2000.-** Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health. *science*, 2000. **287**(5452): p. 443-449.
  
14. **Davey, D., J. Edeson, and F. Edeson. 1953.-** Isolation of a virulent strain of *Plasmodium knowlesi* Sinton and Mulligan, 1932. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1953. **47**(3): p. 259-260.
  
15. **Organisation Mondiale de la Santé, 1973.-** Chimiothérapie du paludisme et résistance aux antipaludiques: rapport d'un groupe scientifique de l'OMS. Sér. Rapp. techn, 1973 (529): p. 10
  
16. **Deborggraeve, S., Koffi, M., Jamonneau, M.; Queyson, R., Simarro, P.P and Herdewijn, P. 2008.-**Molecular analysis of archived blood slides reveals

- an atypical human *Trypanosoma* infection. Diagnostic microbiology and infectious disease, 2008. **61**(4): p. 428-433.
17. **Doke, P.P., D.S. Dakhure, and A.V. Patil. 2011.-** A clinico-epidemiological study of Chikungunya outbreak in Maharashtra state, India. Indian Journal of Public Health, 2011. **55**(4): p. 313.
  18. **Duval, L, 2012.-** Plasmodium chez les grands singes africains. Revue de primatologie, 2012(4).
  19. **Duval, L., Nerrienet, E., Rousset, D., Mba, S.A.S., Fourment, M., Le Bras, J., Robert, V and Ariey, F. 2009.-** Chimpanzee malaria parasites related to Plasmodium ovale in Africa. PLoS One, 2009. **4**(5): p. 55.
  20. **FAO,1994.-**Approche systématique de la lutte contre la mouche tsé-tsé et la trypanosomiase; comptes rendus des groupes d'experts de la FAO, Rome, 1-3 December 1993. A systematic approach to tsetse and trypanosomiasis control; proceedings of the FAO Panels of Experts, Rome, 1-3 December 1993. Animal Production and Health Paper (FAO). Etude FAO Production et Santé Animales (FAO), 1994(121).
  21. **Ferrandis, E., R. Bocquentin, and F. Costantino. 1994.-** L'automatisation en biologie moléculaire. Biofutur, 1994(137): p. 11.
  22. **Fooden, J, 1994.-** Malaria in macaques. International Journal of Primatology, 1994. **15**(4): p. 573-596.
  23. **Freitas-Junior, L.H., Hernandez-Rivas, R., Ralph, S.A., Montiel-Condado, D., Ruvalcaba-Salazar, O.K., Rojas-Meza, A.P., Mâncio-Silva, L and Shorte, S.2005.-** Telomeric heterochromatin propagation and histone acetylation control mutually exclusive expression of antigenic variation genes in malaria parasites. Cell, 2005. **121**(1): p. 25-36.

24. **Frézil, J-L and P. Carnevale. 1976.-** Utilisation de la carboglace pour la capture de *Glossina fuscipes quanzensis* Pires, 1948, avec le piège Challier-Laveissiere. Conséquences épidémiologiques. Cah ORSTOM, Ser Entomol Med Parasitol, 1976. **14**: p. 225-233.
  
25. **Garnham, P., Bird, RG., Baker, JR and Bray, RS. 1961.-**Electron microscope studies of motile stages of malaria parasites II. The fine structure of the sporozoite of *Laverania* (= *Plasmodium*) *falcipara*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1961. **55**(1): p. 98-102.
  
26. **Gillespie, T.R., C.L. Nunn, and F.H. Leendertz. 2008.-**Integrative approaches to the study of primate infectious disease: implications for biodiversity conservation and global health. American journal of physical anthropology, 2008. **137**(S47): p. 53-69.
  
27. **Herbert, A, 2009.-** Contribution à l'étude du parasitisme chez le mandrill au Gabon. 2009. Thèse de médecine vétérinaire, 2009: Ecole vétérinaire de Toulouse.
  
28. **Hermentin, P, 1987.-**Malaria invasion of human erythrocytes. Parasitology Today, 1987. **3**(2): p. 52-55.
  
29. **Higuchi, R.G. and H. Ochman. 1989.-** Production of single-stranded DNA templates by exonuclease digestion following the polymerase chain reaction. Nucleic Acids Research, 1989. **17**(14): p. 586.
  
30. **Hoare, C.A, 1972.-** The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph., 1972. **12** (3): p. 78-88.

31. **Jamonneau, V., P. Solano, and G. Cuny. 2001.**- Use of molecular biology in the diagnosis of human African trypanosomiasis]. *Médecine tropicale: revue du Corps de santé colonial*, 2001. **61** (4-5): p. 347.
32. **Jannin, P., Fitzpatrick, J M., Hawkes, D., Pennec, X., Shahidi, R and Vannier, M. 2002.**-Validation of medical image processing in image-guided therapy. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2002. **21** (12): p. 1445-1449.
33. **Jones, K.E., Patel, N G., Levy, M A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J and Daszak, P. 2008.**- Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 2008. **451** (7181): p. 990-993.
34. **Kabiri, M., Franco, J.R., Simarro, P.P., Ruiz, J.A., Ruiz, J.A., Sarsa, M and Steverding, D. 2002.**- Detection of *Trypanosoma brucei gambiense* in sleeping sickness suspects by PCR amplification of expression-site-associated genes 6 and 7. *Tropical Medicine & International Health*, 2002. **4** (10): p. 658-661.
35. **Kappeler, P.M, 2005.**- Physiological adaptations to seasonality in nocturnal primates. *Seasonality in Primates: Studies of Living and Extinct Human and Non-Human Primates*, 2005. **44**: p. 129.
36. **Krief, S., Escalante, A.A., Pacheco, M.A., Fischer, A., Krief, J.M., Kasenene, J.M., Halbwx, M., André, C., Mugisha, L and Crandfield, M. 2010.**- On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of *Plasmodium falciparum* from Bonobos. *PLoS pathogens*, 2010. **6**(2): p.765.
37. **Landau, I, 1965.**- Description Of *Plasmodium Chabaudi n. Sp.*, Parasite Of african rodents. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*, 1965. **260**: p. 3758.

38. **Landau, I. and A. Chabaud**, Infection naturelle par deux Plasmodium du rongeur *Thamnomys rutilans* en République Centre Africaine. CR Hebd. Seances Acad. Sci, 1965. **261**: p. 230-232.
39. **Langreth, S.G., Jensen, J.B., Reese, R.T and Trager, W**, Fine Structure of Human Malaria InVitro\*†. Journal of Eukaryotic Microbiology, 1978. **25** (4): p. 443-452.
40. **Larivière, M.**, Etude de l'infection expérimentale à *T. gambiense* du *Cricetomys gambianus*. Note préliminaire. Bull. Méd. Afr. Occid. Française, 1957. **2**: p. 122-125.
41. **Laveissière, C., Grébaut, P., Lemasson, J-J., Meda, A H., Couret, D., Doua, F., Brou, N et Cattand, P. 1994.**-Les communautés rurales et la lutte contre la maladie du sommeil en forêt de Côte d'Ivoire. 1994. **4** (10): p.8.
42. **Lecolier, B. and B. Pucheu. 1993.**- Intérêt de l'étude de l'avidité des IgG pour le diagnostic de la toxoplasmose. Pathologie et biologie, 1993. **41** (2): p. 155-158.
43. **Lekana-Douki, J.B., Boutamba, S D D., Zatra, R., Edou, S E Z., Ekomy, H., Bisvigou, U and Toure-Ndouo, F S. 2011.**- Increased prevalence of the *Pfmdr1 86N* genotype among field isolates from Franceville, Gabon after replacement of chloroquine by artemether–lumefantrine and artesunate–mefloquine. Infection, Genetics and Evolution, 2011. **11** (2): p. 512-517.
44. **Liu, W., Li, Y., Learn, G.H., Rudicell, R.S., Robertson, J.D., Keele, B.F., Ndjango, J.B.N., Sanz, C.M., Morgan, D.B and Locatelli, S. 2010.**- Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. Nature, 2010. **467** (7314): p. 420-425.



45. **Louis, F., P. Simarro, and P. Lucas. 2002.**-Maladie du sommeil: cent ans d'évolution des stratégies de lutte: La trypanosomose humaine africaine. Bulletin de la Société de pathologie exotique, 2002. **95** (5): p. 331-336.
46. **Magnus, E., T. Vervoort, and N. Van Meirvenne. 1978.**- Communications—Mededelingen. Ann. Soc. belge Méd. trop, 1978. **58** : p. 169-176.
47. **World .Health.Organisation. 1969.**- Parasitologie du paludisme: rapport d'un groupe scientifique de l'OMS, 1969.
48. **Mason, S.J., Miller, L.H., Shiroishi, T., Dvorak, J.A and Mcginniss, M.H.2008.**-The Duffy blood group determinants: their role in the susceptibility of human and animal erythrocytes to Plasmodium knowlesi malaria. British journal of haematology, 2008. **36** (3) : p. 327-335.
49. **Mbida, J.M., Mimpfoundi, R., Njiokou, F., Manga, L et Laveissiere, C. 2009.**-Distribution et écologie des vecteurs de la trypanosomose humaine africaine de type savanicole en zone de forêt dégradée au sud Cameroun: cas du foyer de Doumé. Bull Soc Pathol Exot, 2009. **102** (2) : p. 101-105.
50. **Moloo, S. 1986.**- Further studies of cyclical transmission and antigenic variation of the ILDar 1 serodeme of Trypanosoma vivax. Parasitology, 1986. **92** : p. 581-593.
51. **Molyneux, D.H.1977.**- Vector relationships in the Trypanosomatidae. Advances in Parasitology, 1977. **15** : p. 1-82.
52. **Murray, J. and C.I. Levene. 1977.**- Evidence for the role of vitamin C-6 as a cofactor of lysyl oxidase. Biochem. J, 1977. **167** : p. 463-467.
53. **Nunn, C.L. and E.W. Heymann. 2005.**-Malaria infection and host behavior: a comparative study of Neotropical primates. Behavioral Ecology and Sociobiology, 2005. **59** (1): p. 30-37.

54. **Nwakanma, D.C., Gomez-Escobar, N., Walther, M., Crozier, S., Dubovsky, F., Malkin, E., Locke, E and Conway, D J. 2009.-** Quantitative detection of *Plasmodium falciparum* DNA in saliva, blood, and urine. *Journal of Infectious Diseases*, 2009. **199** (11) : p. 1567-1574.
55. **Ollomo, B., Durand, P., Prugnolle, F., Douzery, E., Arnathau, C., Nkoghe, D., Leroy, E and Renaud, F. 2009.-** A new malaria agent in African hominids. *PLoS pathogens*, 2009. **5**(5): p. 446.
56. **Pages, F., E. Orlandi-Pradines, and V. Corbel. 2007.-** Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2007. **37** (3) : p. 153-161.
57. **Pedersen, A.B., Jones, K E., Nunn, C L and Altizer, S. 2007.-**Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. *Conservation Biology*, 2007. **21** (5) : p. 1269-1279.
58. **Penchenier, L., Bodo, JM., Bureau, PH., Morlais, I., Grebaut, Pascal., Djoha, S and Herder, Stéphane. 1996.-** Utilisation de la PCR sur sang pour le diagnostic des trypanosomoses porcines. *Bulletin de liaison et de documentation de l'OCEAC*, 1996. **29** : p. 50-53.
59. **Poirriez, J., Baccam, D., Dei-Cas, E., Brogan, T and Landau, I. 1993.-** Description de *Plasmodium petersi* n. sp. et *Plasmonium georgesii* n. sp, parasites d'un *Cercocebus albigena* originaire de République Centrafricaine. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 1993. **68** (5-6) : p. 203-210.
60. **Pourrut, X. and V. Robert. 2009.-** Absence d'infection plasmodiale chez les singes sauvages du Nord-Sénégal? *Bulletin de la Société de Pathologies Exotiques*, 2009. **102** (1) : p. 17-18.

61. **Prugnolle, F., Durand, P., Neel, C., Ollomo, B., Ayala, F.J., Arnathau, C., Etienne, L., Mpoudi-Ngole, E., Nkoghe, D and Leroy, E. 2010.**-African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010. **107** (4) : p. 1458-1463.
62. **Radwanska, M., Claes, F., Magez, S., Magnus, E., Perez-Morga, D., Pays, E and Büscher, P. 2002.**- Novel primer sequences for polymerase chain reaction-based detection of *Trypanosoma brucei gambiense*. The American journal of tropical medicine and hygiene, 2002. **67** (3) : p. 289-295.
63. **Rayner, J.C., Liu, W., Peeters, M., Sharp, P.M and Hahn, B.H. 2011.**- A plethora of *Plasmodium* species in wild apes: a source of human infection? Trends in parasitology, 2011. **27** (5) : p. 222-229.
64. **Rayner, K.J., Esau, C C., Hussain, F., McDaniel, L., Marshall, S M., Van Gils, J M., Ray, T D., Sheedy, F J., Goedeke, L and Liu, X. 2011.**- Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides. Nature, 2011. **478** (7369) : p. 404-407.
65. **Roberts, L. and J. JANOVY. 2000.**- Kinetoplasta: Trypanosomes and their kin. Foundations of Parasitology. McGrawHill International Editions. Biological Series. Boston, USA, 2000.15 (27) : p. 54-60.
66. **Rodhain, J, 1939.**-Les *Plasmodium* des anthropoides de l'Afrique centrale et leurs relations avec les *Plasmodium* humains. Annuaire de la Société Belge de Médecine Tropicale, 1939. **19** : p. 563-572.
67. **Setchell, J.M., Bedjabaga, I.B., Goossens, B., Goossens, B., Reed, P., Wickings, E.J and Knapp, L.A. 2007.**- Parasite prevalence, abundance, and diversity in a semi-free-ranging colony of *Mandrillus sphinx*. International Journal of Primatology, 2007. **28** (6) : p. 1345-1362.

68. **Shahabuddin, M. and D. Kaslow. 1994.**-Biology of the development of Plasmodium in the mosquito midgut: a molecular and cellular view. Bulletin de l'Institut Pasteur, 1994. **92** (2) : p. 119-132.
69. **Sidibé, I, 2007.**- Evaluation et validation des amorces ITS pour l'amélioration du diagnostic PCR des trypanosomoses animales africaines. Developing Methodologies for the Use of Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis and Monitoring of Trypanosomosis, 2007 : p. 191.
70. **Simarro, P., Ruiz, JA., Franco, JR and Josenando, T. 2002.**- Attitude towards CATT-positive individuals without parasitological confirmation in the African Trypanosomiasis (Tb gambiense) focus of Quiçama (Angola). Tropical Medicine & International Health, 2002. **4** (12) : p. 858-861.
71. **Simo, G., Njiokou, F., Nkinin, S., Mgbiedie, M., Laveissière, C et Herder, S. 2000.**-Etude de la prevalence des infections a trypanosomes chez les animaux sauvages du foyer de la maladie du sommeil de Bipindi, Cameroun. Bulletin de Liaison et de Documentation-OCEAC, 2000. **33** (2) : p. 8-15.
72. **Simpson, A.J.G., Reinach, FC., Arruda, P., Arruda, P., Acencio, M., Alvarenga, R., Alves, LMC., Araya, JE., Baia, GS and Baptista, CS. 2000.**- The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. Nature, 2000. **406** (6792) : p. 151-157.
73. **Sinden, R., R. Hartley, and L. Winger. 1985.**- The development of Plasmodium ookinetes in vitro: an ultrastructural study including a description of meiotic division. Parasitology, 1985. **91** (02) : p. 227-244.
74. **Singh, B., Sung, L.K., Matusop, A., Radhakrishnan, A., Shamsul, S.S.G., Cox-Singh, J., Thomas, A and Conway, D.J. 2004.**- A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. The Lancet, 2004. **363** (9414) : p. 1017-1024.

75. **Sinton, J. and H.W. Mulligan. 1933.-** A Critical Review of the Literature Relating to the Identification of the Malarial Parasites Recorded from Monkeys of the Families Cercopithecidae and Colobidae. 1933: Thacker's Press & Directories.
76. **Steenkeste, N., Incardona, S., Chy, S., Duval, L., Ekala, M-T., Lim, P., Hewitt, S., Sochantha, T., Socheat, D and Rogier, C. 2009.-** Towards high-throughput molecular detection of Plasmodium: new approaches and molecular markers. *Malaria journal*, 2009. **8**(1): p. 86.
77. **Talaki, E., Sidibe, I., Diall, O., Grace, D., Barry, AM., Djiteye, A., Bocoum, Z., Clausen, P-H., Randolph, T and Affognon, H. 2006.-** Répartition spatiale des trypanosomes animales en relation avec la chimiorésistance dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest (Mali et Guinée). 2006.
78. **Tan, C.H., Vythilingam, I., Matusop, A., Chan, S.T and Singh, B. 2008.-** Bionomics of *Anopheles latens* in Kapit, Sarawak, Malaysian Borneo in relation to the transmission of zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *Malar J*, 2008. **7**: p. 52.
79. **Toro, M., E. Leon, and R. Lopez. 1981.-** Haematocrit centrifugation technique for the diagnosis of bovine trypanosomiasis. *Veterinary parasitology*, 1981. **8** (1): p. 23-29.
80. **Truc, P., Büscher, P., Cuny, G., Gonzatti, M I., Jannin, J., Joshi, P., Juyal, P., Lun, Z-R., Mattioli, R and Pays, E. 2013.-** Atypical human infections by animal trypanosomes. *PLoS neglected tropical diseases*, 2013. **7** (9): p. e2256.
81. **Tutin, C., L. White, and A. Mackanga-Missandzou. 1997.-** The use by rain forest mammals of natural forest fragments in an equatorial African savanna. *Conservation Biology*, 1997. **11** (5) : p. 1190-1203.

82. **Van Hoof, L., Henrard, C., Peel, E et Wanson, M. 1947.**-Sur la chimiothérapie de l'onchocercose. Ann. Soc. Belge Méd. Tropicale, 1947. **27**: p. 173-177.
83. **Vanhamme, L., Paturiaux-Hanocq, F., Poelvoorde, P., Nolan, D P., Lins, L., Van Den, AJ., Pays, A., Tebabi, P., Van Xong, H and Jacquet, A. 2003.**- Apolipoprotein LI is the trypanosome lytic factor of human serum. Nature, 2003. **422(6927)**: p. 83-87.
84. **Vickerman, K,1985.**- Developmental cycles and biology of pathogenic trypanosomes. British Medical Bulletin, 1985. **41(2)**: p. 105-114.
85. **Vickerman, K. and A. Luckins. 1969.**- Localization of variable antigens in the surface coat of Trypanosoma brucei using ferritin conjugated antibody. 1969. Parasitology, 1969. **41 (1)**: p. 60-74.
86. **Wright, A.N. and M.E. Gompper. 2005.**- Altered parasite assemblages in raccoons in response to manipulated resource availability. Oecologia, 2005. **144 (1)**: p. 148-156.

#### REFERENCES WEBOGRAPHIE

87. **Agence Nationale des Parcs Nationaux, 2008 :** <http://www.parcsgabon.org/l-anpn/edito>
88. **Institut Pasteur., 2012:**<http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/paludisme>
89. **Impact Malaria., 2012:**[http://fr.impact-malaria.com/web/formation\\_paludisme/especes\\_souches\\_taxonomie](http://fr.impact-malaria.com/web/formation_paludisme/especes_souches_taxonomie)

90. **Yale University., 2012:**<http://epi.yale.edu/community/blog/2012/04/19/how-indicators-are-being-used-around-world-improve-environmental-managemen>
  
91. **République Démocratique du Congo Ministère de la Santé Programme National de Lutte Contre le Paludisme :**Planches pour leDiagnostic microscopique du paludisme  
[www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/PDF\\_Files/Congo\\_Bench\\_Aid\\_vF.pdf](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/PDF_Files/Congo_Bench_Aid_vF.pdf)

# **ANNEXES**



## ANNEXE 1 : Conditions de réalisation de PCR pour *Plasmodium sp*

### PCR1 :

	QTé unit (µl)	Nbr ééch	QTé totale (µl)
<b>Mix PCR</b>	12.5		
<b>Sol Q</b>	2.5		
<b>DW2</b>	0.2		
<b>DW4</b>	0.2		
<b>Eau</b>	5.6		
<b>ADN</b>	4	1	4

Conditions de PCR (Programme : MRT, DW12)		
• 95°C	15'	} X 35
• 94°C	30''	
• 60°C	1'30''	
• 72°C	1'30''	
• 72°C	10'	
• 72°C	10'	

### PCR2 :

	QTé unit (µl)	Nbreéch.	QTé totale (µl)
<b>TP 10x</b>	2.5		
<b>Eau</b>	15.15		
<b>MgCl2</b>	1.25		
<b>dNTP1/10</b>	2.5		
<b>A.Cytb-1</b>	1.25		
<b>A.Cytb-2</b>	1.25		
<b>TAQ inv</b>	0.1		
<b>ADN 1</b>	1	1	1

Conditions de PCR (Programme : BEEP, CytB)		
• 95°C	15'	} X 35
• 94°C	30''	
• 45	30''	
• 72°C	1'30''	
• 72°C	10'	
• 72°C	10'	
• 10°C	10'	

## ANNEXE 2 :

### FICHE CAPTURE RONGEURS :

- Nom :
- Date :
- Site :
- Climat :
- Espèce :
- Sexe :
- Age:
- Poids :
- Etat général:

#### Mesures :

- L. corps (total) :
- L. queue :
- L. pattes ante :
- L. pattes post :

#### Prélèvements :

- Sang :  frotti  tube EDTA  tube sec
- Fèces :
- Ecouvillons :
- Organes :  intestin  foie  poumon  
 rein  cœur  rate
- Autres :

### FICHE CAPTURE RONGEURS :

- Nom :
- Date :
- Site :
- Climat :
- Espèce :
- Sexe :
- Age:
- Poids :
- Etat général:

#### Mesures :

- L. corps (total) :
- L. queue :
- L. pattes ante :
- L. pattes post :

#### Prélèvements :

- Sang :  frotti  tube EDTA  tube sec
- Fèces :
- Ecouvillons :
- Organes :  intestin  foie  poumon  
 rein  cœur  rate
- Autres :

Annexe : protocole PCR *Trypanosoma sp*

	QTé unit ( $\mu$ l)	Nbreéch.	QTé totale ( $\mu$ l)
<b>TP 10x</b>	2		
<b>Eau</b>	12,22		
<b>MgCl2</b>	2		
<b>dNTP1/10</b>	2		
<b>ITS1</b>	0,24		
<b>ITS2</b>	0,24		
<b>TAQ inv</b>	0.3		
<b>ADN 1</b>	3	1	3

**Conditions de PCR (Programme : BEEP, CytB)**

- 95°C            5'
- 95°C            1' }            X 40
- 60°C            1' }
- 72°C            1' }
- 72°C            10'
- 4°C             5'

## ETUDE DE LA PREVALENCE DE *PLASMODIUM SP* ET *TRYPANOSOMA SP* AU SEIN DES COMMUNAUTES D'HOTES DE TROIS SITES DE CONSERVATION DE PRIMATES NON HUMAINS AU GABON

La biodiversité, associée à la « nature sauvage », est souvent considérée comme une menace pour la santé humaine, la forêt étant perçue comme le lieu de tous les dangers. Bien que les humains ont toujours partagée l'habitat des primates non humains, la dynamique des interactions entre humains et primates a radicalement changé dans un passé récent.

Notre travail vise à étudier la prévalence de deux hémoparasites (*Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp*) au sein des communautés d'hôtes de trois sites de conservation de Primates Non Humain au Gabon ; déterminer et comparer au sein d'une même niche, les différences de prévalences au sein des populations cohabitant et déterminer si le site constitue un facteur de risque pour les infections à *Plasmodium sp* et *Trypanosoma sp* compte tenu des liens évolutionnistes et écologiques entre les primates et leurs agents pathogènes.

Au total 551 prélèvement de sang ont été effectués et analysés par les techniques de PCR nichée et de PCR à temps réelle respectivement pour le diagnostic de *Plasmodium sp* et de *Trypanosoma sp*. Nous avons obtenu une prévalence globale de 7.07% en *Plasmodium sp* et aucun individu positif en *Trypanosoma sp*.

Selon les espèces la prévalence en *Plasmodium sp* est répartie comme suit :

- Hommes : 20%
- PNH : 6,09% dont 57,14% gorilles, 25% chimpanzés
- Rongeurs : 6,34%

Selon le site d'étude la prévalence inter espèces en *Plasmodium sp* est répartie comme suit :

- CDP : 4,83%
- PPG : 50%
- Parc de la Lekedi : 60%

L'analyse statistique des résultats montre que d'une manière générale, sur les trois sites de notre étude la population humaine est significativement plus infectée que les PNH et les rongeurs alors qu'il n'existe aucune différence significative entre rongeurs et PNH ( $\chi^2 = 9,43$  et  $p = 8,946.10^{-3}$ ). Au Centre De Primatologie les primates Non Humain sont significativement moins infecté que la population humaine et les rongeurs ( $p = 3,838.10^{-5}$ ).

**Mots clés :** Primates Non Humains – *Plasmodium sp* – *Trypanosoma sp* – prévalence – Gabon

**Auteur :** Bertony Vaky OTORO [Bertony.otoro@yahoo.fr](mailto:Bertony.otoro@yahoo.fr) ; BP : 3898, Beau séjour- Libreville-Gabon

Tel : +221 77 460 67 82/ +241 06 19 00 57