



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR ENVIRONNEMENT

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2021-2022

N° D'ORDRE :

.....

CANDIDAT

Nom : TRAORE

Prénom : Barkissa Mélika

THESE DE DOCTORAT

Mention : Ecologie, Biodiversité et Evolution

**Spécialité : Génétique et Parasitologie
moléculaire**

**Distribution géographique des trypanosomoses
animales et structure génétique des populations
de *Trypanosoma congolense* circulant chez les
animaux domestiques (Bovins et Porcins) en Côte
d'Ivoire**

JURY

Président: M. KOFFI Béné Jean-Claude, Professeur Titulaire,
Université Jean Lorougnon Guédé, Côte d'Ivoire

Directeur: M. KOFFI N'Goran Maturin, Professeur Titulaire,
Université Jean Lorougnon Guédé, Côte d'Ivoire

Rapporteur: M. KOFFI Kouamé Guillaume, Maître de
Conférences, Université Nangui Abrogoua, Côte
D'Ivoire

Examineur: M. N'GORAN Kouamé Edouard, Maître de
Conférences, Université Péléféron Gon Coulibaly,
Côte d'Ivoire

Examineur: M. ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan,
Maître de Conférences, Université Jean Lorougnon

**Soutenue publiquement
le :...22/12/2022.....**

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACES.....	vi
AVANT-PROPOS.....	vii
REMERCIEMENTS	viii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xi
LISTE DES TABLEAUX	xiii
LISTE DES FIGURES	xv
LISTE DES ANNEXES	xvii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GÉNÉRALITES.....	5
1.1. Zone d'étude.....	6
1.2. Trypanosomoses animales.....	8
1.2.1. Définition et repartition géographique	8
1.2.2. Trypanosomose Animale Africaine (TAA) et répartition géographique	9
1.2.2.1. <i>Trypanosoma brucei</i> s. 1.....	9
1.2.2.2. <i>T. vivax</i>	10
1.2.2.3. <i>T. congolense</i>	10
1.2.2.4. <i>T. simiae</i>	11
1.2.2.5. <i>T. evansi</i>	11
1.2.3. Epidémiologie de la Trypanosomose Animale Africaine	11
1.2.3.1. Agents étiologiques	11
1.2.3.1.1. Description.....	11
1.2.3.1.2. Systématique des trypanosomes	12
1.2.3.1.3. Génome des trypanosomes	15
1.2.3.1.3.1. ADN nucléaire	15
1.2.3.1.3.2. ADN kinétoplastique	15
1.2.3.1.4. Mode de reproduction.....	16
1.2.3.1.5. Cycle de développement des trypanosomes des animaux domestiques ..	16
1.2.3.1.5.1. Chez l'insecte vecteur : <i>Glossina palpalis</i>	16
1.2.3.1.5.2. Chez l'hôte mammifère	17

1.2.3.1.6. Particularité des trypanosomes : variabilité antigénique	18
1.2.3.2. Hôtes nourriciers	20
1.2.3.3. Vecteurs de la maladie	20
1.2.3.3.1. Glossines.....	20
1.2.3.3.1.1. Description.....	20
1.2.3.3.1.2. Distribution géographique des glossines	21
1.2.3.3.1.3. Régime alimentaire	22
1.2.3.3.1.4. Distribution géographique des glossines en Côte d'Ivoire	22
1.2.3.3.2. Vecteurs mécaniques	23
1.2.4. Transmission des trypanosomes aux animaux	24
1.2.4.1. Transmission vectorielle.....	24
1.2.4.2. Transmission directe.....	24
1.2.5. Lutte antivectorielle	25
1.2.6. Situation épidémiologique de la trypanosomose animale africaine en Côte d'Ivoire	26
1.3. Concepts de base en génétique des populations	27
1.3.1. Terminologie de base.....	27
1.3.2. Diversité génétique	28
1.3.2.1. Définition.....	28
1.3.2.2. Utilisation de marqueurs génétiques pour l'analyse de la diversité génétique des populations.....	28
1.3.2.3. Marqueurs moléculaires	30
1.3.2.4. Choix des marqueurs microsatellites.....	30
1.3.2.5. Apport des marqueurs génétiques dans la caractérisation des trypanosomes .	31
1.4. Phylogénie moléculaire	31
1.4.1. Principes de reconstruction des phylogénies moléculaires.....	32
1.4.1.1. Alignement des séquences.....	32
1.4.1.2. Méthodes d'inférences phylogénétiques	32
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	34
2.1. Matériel.....	35
2.1.1. Matériel biologique.....	35
2.1.2. Matériel technique	35

2.1.2.1. Matériel d'échantillonnage.....	35
2.1.2.2. Matériel pour les analyses <i>in situ</i>	35
2.1.2.3. Matériel de laboratoire	36
2.2. Méthodes	36
2.2.1. Activités sur le terrain.....	36
2.2.1.1. Sensibilisation des populations	36
2.2.1.2. Considérations éthiques.....	37
2.2.1.3. Collecte d'échantillons	37
2.2.1.4. Diagnostic sérologique	38
2.2.1.5. Diagnostic parasitologique	40
2.2.1.5.1. Technique du buffy-coat.....	40
2.2.1.5.2. Technique de la mini-colonne échangeuse d'anion.....	41
2.2.2. Activités au laboratoire	42
2.2.2.1. Isolement des souches de trypanosomes	42
2.2.2.2. Extraction de l'ADN	44
2.2.2.3. Contrôle de la qualité de l'ADN.....	44
2.2.2.4. Diagnostic moléculaire des trypanosomes	44
2.2.2.4.1. Amplification par la méthode de réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	44
2.2.2.4.1.1. Mélange réactionnel.....	46
2.2.2.4.1.2. Programme du cycle thermique d'amplification.....	46
2.2.2.4.1.3. Electrophorèse et visualisation des produits d'amplification	46
2.2.2.5. Génotypage des souches de <i>Trypanosoma congolense</i> à l'aide des marqueurs microsatellites	47
2.2.2.5.1. Amplification des gènes par PCR.....	47
2.2.2.5.2. Séquençage des gènes amplifiés.....	48
2.2.3. Analyse des données	49
2.2.3.1. Distribution géographique des trypanosomoses animales.....	49
2.2.3.1.1. Calcul des prévalences.....	49
2.2.3.1.2. Calcul de la sensibilité et la spécificité des tests sérologiques et parasitologiques comparés au gold stantard de la PCR	49

2.2.3.2. Génétique des populations.....	50
2.2.3.2.1. Traitement des données de séquences d'ADN	50
2.2.3.2.2. Diversité et structuration génétique des populations de <i>T. congolense</i> ..	50
2.2.3.2.2.1. Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites	50
2.2.3.2.2.2. Nombre moyen d'allèles par locus	51
2.2.3.2.2.3. Fréquences alléliques	51
2.2.3.2.2.4. Taux d'hétérozygotie	52
2.2.3.2.2.5. Contenu en polymorphisme informatif	52
2.2.3.2.3. Structure génétique des populations	52
2.2.3.2.3.1. Equilibre d'Hardy-Weinberg	52
2.2.3.2.3.2. Coefficient de consanguinité F_{IS}	53
2.2.3.2.3.3. Déséquilibre de liaison.....	53
2.2.3.3. Association entre la distribution géographique de <i>T. congolense</i> et ses paramètres génétiques	54
2.2.3.3.1. Analyse cladistique.....	54
2.2.3.3.2. Analyse en composante principale (ACP).....	54
2.2.3.3.3. Isolement par la distance (Test de Mantel).....	54
CHAPITRE III :	55
RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	55
3.1. Résultats	56
3.1.1. Distribution géographique des trypanosomoses animales	56
3.1.1.1. Population de l'étude.....	56
3.1.1.2. Prévalence sérologique de la trypanosomose animale africaine dans les départements visités	57
3.1.1.3. Prévalence parasitologique de la trypanosomose animale dans les départements visités	60
3.1.1.4. Caractérisation moléculaire des trypanosomes	62
3.1.2. Diversité génétique des populations de l'espèce <i>Trypanosoma congolense</i>	70
3.1.2.1. Profils génotypiques	70
3.1.2.2. Fréquences alléliques et polymorphisme	73

3.1.3. Structure génétique du complexe <i>Trypanosoma congolense</i>	80
3.1.3.1. Hétérozygotie et équilibre génétique	80
3.1.3.2. Relation phylogénétique entre les individus du complexe <i>T. congolense</i>	84
3.1.4. Corrélation entre la structuration génétique et la distribution géographique de <i>T. congolense</i> savane	87
3.1.4.1. Analyse de la dispersion spatial des individus	87
3.1.4.2. Isolement par la distance	88
3.2. Discussion.....	91
CONCLUSION	102
RÉFÉRENCES.....	105
ANNEXES	127
PUBLICATION	135

DÉDICACES

A

N'nan, ma meilleure amie,

A

Grand-papa, qui aurait tant aimé voir ce jour,

Je vous garde à jamais dans mon cœur.

AVANT-PROPOS

Le projet «Trypa-NO !» est mené en partenariat avec plusieurs centres et institutions de recherche dont l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) à Daloa en Côte d'Ivoire; le Programme National d'Élimination de la Trypanosomose Humaine Africaine (PNETHA) à Abidjan en Côte d'Ivoire; l'Institut Pierre Richet (IPR) à Bouaké en Côte d'Ivoire; l'Unité Mixte de Recherche IRD/CIRAD INTERTRYP à Montpellier en France; le Programme de Recherche Clinique sur la THA (PRCT) à Daloa en Côte d'Ivoire et le Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) à Bobo-Dioulasso au Burkina Faso. Ce projet avait pour objectif l'élimination de la Trypanosomose Humaine Africaine (THA) en tant que problème de santé publique à l'horizon 2020 en Côte d'Ivoire. Pour mener à bien ce projet, l'approche *One-Health* a été adoptée en investigant aussi bien les Hommes que les animaux domestiques. Dans ce contexte, nos travaux sont centrés sur l'investigation chez les animaux domestiques.

REMERCIEMENTS

A travers cette lucarne, nous adressons nos sincères remerciements à :

Madame TIDOU Abiba Sanogo Epse KONE, Professeur Titulaire, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa (Côte d'Ivoire), dont l'institution a servi de cadre à notre formation.

Monsieur KONE Tidiani, Professeur Titulaire, Vice-président chargé de la pédagogie, de la recherche, de la vie universitaire et de l'innovation technologique de l'UJLoG pour sa bienveillance sur la formation et la recherche à l'UJLoG.

Monsieur AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire, Vice-président chargé de la planification, de la programmation et des relations extérieures de l'UJLoG, pour ses conseils et son dévouement au travail bien fait.

Notre reconnaissance va également à l'endroit de Monsieur KOUASSI Kouakou Lazard Professeur Titulaire, Directeur de l'UFR Environnement de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa (Côte d'Ivoire), pour ses œuvres en faveur de la formation des étudiants.

Monsieur KOFFI Béné Jean-Claude, Professeur Titulaire, Directeur du laboratoire de Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop) de l'UFR Environnement de l'UJLoG. Merci Professeur pour m'avoir accueilli dans votre Laboratoire et d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de thèse.

Nous tenons à exprimer particulièrement notre reconnaissance à Monsieur KOFFI N'goran Mathurin, Professeur Titulaire à l'Université Jean Lorougnon Guédé (Côte d'Ivoire), UFR Environnement, directeur scientifique de cette thèse. Merci Professeur pour le temps, les moyens matériels et financiers mis à notre disposition, mais également pour les observations qui nous ont guidés dans ce travail. Le dévouement que vous portez à votre vocation et votre rigueur scientifique nous encouragent dans la quête de l'excellence.

A Monsieur KONATE Ibrahim, Professeur Titulaire à l'Université Jean Lorougnon Guédé (Côte d'Ivoire), UFR Agroforesterie. Merci pour les conseils que vous nous avez prodigués ainsi que pour votre contribution pour le devenir de l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire (URGEM).

Notre reconnaissance va également à Monsieur JAMONNEAU Vincent, chercheur à l'Institut de Recherche pour le Développement (l'IRD) dans l'UMR INTERTRYP. Merci pour vos conseils avisés et votre disponibilité, mais également pour les moyens financiers et matériels que vous avez mis à notre disposition pour la réalisation de ces travaux de recherche.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Monsieur KOFFI Kouamé Guillaume, Maître de Conférences à l'UNA, Monsieur N'Goran K Edouard, Maître de Conférences à l'UPGC et Monsieur ACKAH Jacques August Alfred Bognan, Maître de Conférences à l'UJLoG pour avoir accepté de juger ce travail.

Merci à Madame RAVEL Sophie, Chercheur à l'IRD à l'UMR-INTERTRYP. Nous sommes honorés d'avoir bénéficié de votre expertise en matière de biologie moléculaire. Merci également pour votre bienveillance et votre disponibilité.

Merci à Messieurs DE MEEÛS Thierry et BART Jean-Mathieu, Chercheurs à l'IRD à l'UMR-INTERTRYP, IRD-Cirad pour leur contribution à l'élaboration de ce manuscrit.

A Monsieur KABORE Jacques, chercheur au CIRDES, merci de nous avoir aidé au laboratoire ainsi que pour votre bienveillance.

Merci à Messieurs KOUAKOU Lingué, Directeur coordonnateur du PNETHA, KABA Dramane, Directeur de l'IPR de Bouaké, N'GOUAN Kouassi Emmanuel, Directeur du PRCT et COURTIN Fabrice, Chercheur à l'IRD pour leur contribution et leur assistance qui nous ont permis de mener à bien les enquêtes sur le terrain.

Merci à Monsieur KOFFI N'dodo Clovis, Maître de Conférences à l'UJLoG, UFR Agroforesterie, pour avoir guidé nos premiers pas dans le domaine de la recherche scientifique. Mes remerciements vont également à l'endroit de nos devanciers, les Docteurs AHOUTY Ahouty Bernardin, N'DJETCHI Kassi Martial, SIMARO Siriki, ABE Allépo Innocent, YEBOUE Kouadio Félix, KONE Minanegnirin et au technicien du laboratoire de l'URGEM, Monsieur KONAN Konan Thomas. Merci pour votre disponibilité et pour nous avoir initiées aux techniques de la biologie moléculaire. Vos conseils et vos critiques nous ont grandement aidés à l'élaboration de ce document.

Merci à Docteur YAO Flora pour ton soutien et ta disponibilité. Merci également à KANGA Ahou Nadia pour ton soutien et ton amitié.

Merci à Mademoiselle SOKOURI Abla Edwige, notre binôme, aujourd'hui notre sœur de cœur, pour toute l'aide que tu m'as apportée et pour ton soutien permanent.

A Monsieur ASSI Sonan Romuald, Docteur, encore merci pour tes conseils et ton soutien permanent.

Merci également à l'équipe « trypano » qui parcourt toute la Côte d'Ivoire dans le cadre de la lutte contre les trypanosomoses africaines. Messieurs N'DRI Louis, technicien à l'IPR, BLE Sépé Léopold, infirmier au PRCT, YAPO Diambara, Technicien vétérinaire à LANADA, GABIN Anastase, technicien du PRCT, SAKI Julien, chauffeur du PNETHA, MAMBO Cyril,

infirmier à l'IPR et tous les autres membres de la famille trypano, merci à vous de m'avoir adoptée et formée.

Je tiens à remercier particulièrement M. KONKOBO Maurice et M. BAMBA Mohamed, techniciens au CIRDES, pour leur disponibilité et leur soutien au laboratoire.

Aux stagiaires de la salle 120 au CIRDES, merci à OUEDRAOGO Charlie pour ton accueil chaleureux et ta bienveillance. Merci à HOUNYEME Eustache pour ta bonne humeur contagieuse. Merci à SAMBE Babacar de Dakar, ta formation sur *R* m'a été utile. Enfin merci aux doyens, SOMDA Bienvenue et SIB OLLO pour leurs conseils.

Merci à N'GUESSAN Konan Jean-Yves pour ta présence à mes côtés et ton soutien indéfectible.

Merci surtout à notre famille pour la confiance que vous m'accordé et le soutien sans faille à mon égard. Vous représentez le pilier sur lequel je pourrai toujours m'appuyer et ma source intarissable de courage et de motivation. Je vous aime infiniment.

A toutes les personnes dont les noms n'ont pu être mentionnés, qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique
A _m	: Nombre moyen d'allèles
ASC	: Agent de santé communautaire
BC	: Buffy-Coat
BCT	: Buffy-Coat Test
BET	: Bromure d'Ethidium
BioNJ	: Algorithme neighbor-joining
CATT	: Card Agglutination Test for Trypanosomiasis
CIRDES	: Centre International de Recherche-Developpement sur l'Elevagz
dNTP	: Désoxynucléotide-5'-triphosphate
DEAE	: Diethylaminoethyl cellulose
EDTA	: Acide Ethylène Diamine Trétracétique
g	: gramme
HWE	: Hardy-Weinberg
IC	: Intervalle de confiance
IPR	: Institut Pierre Richet
IRD	: Institut de Recherche pour le Développement
LCR	: Liquide céphalo-rachidien
LiTat	: Lille Trypanozoon antigen type
mAECT	: Miniature Anion Exchange Centrifugation Technique (technique de filtration sur mini-colonne échangeuse d'anions)
mM	: millimolaire
NMRI	: Naval Medical Research Institute
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
Pb	: Paire de bases
PBS	: Phosphate Base Saline
PCR	: Réaction de Polymérisation en Chaîne
PIB	: Produit intérieur brut
PIC	: Contenu en polymorphisme informatif
PNETHA	: Programme National d'Elimination contre la THA
PRCT	: Projet de Recherche Clinique sur les Trypanosomoses
PSG	: Phosphate saline glycosé

Rpm	: nombre de tour par minutes
TAA	: Trypanosomose Animale Africaine
Taq pol	: Taq polymérase
TBE	: Tris Borate EDTA
TBR	: <i>Trypanosom brucei</i>
TCF	: <i>Trypanosoma congolense</i> type forêt
TCS	: <i>Trypanosoma congolense</i> type savane
TVW	: <i>Trypanosoma vivax</i>
THA	: Trypanosomose Humaine Africaine
TL	: Trypanolyse
U/ μ L	: Trypanolyse
UjLoG	: Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa
URGEM	: Unité de Recherche Génétique et Epidémiologie moléculaire
VAT	: Variant Antigen Type/ Variant antigénique
VN	: Vrai négatif
VP	: Vrai positif
VPN	: Valeur prédictive négative
VPP	: Valeur prédictive positive
VSG	: Variable Surface Glycoprotein/Glycoprotéine variable de surface
WHO	: World Health Organization/Organisation mondiale de la santé

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Amorces diagnostiques utilisées pour l'amplification de l'ADN des trypanosomes	45
Tableau II: Séquences oligonucléotidique conçues pour l'amplification des microsatellites sélectionnés pour <i>T. congolense</i>	48
Tableau III: Nombre d'animaux échantillonnés par espèce et par département.....	56
Tableau IV: Résultats du test CATT sur sang total et plasma chez les bovins et les porcins dans les départements visités	59
Tableau V: Résultat du BCT et de la mAECT chez les bovins et porcins des différentes localités prospectées	61
Tableau VI : Prévalence des différentes espèces de trypanosomes chez les bovins par localité	64
Tableau VII: Prévalence des différentes espèces de trypanosomes chez les porcins par localité	65
Tableau VIII: Prévalence moléculaire des infections aux trypanosomes observées chez les animaux domestiques (bovins et porcs)	66
Tableau IX: Performance des tests sérologiques et parasitologiques pour le diagnostic des trypanosomoses	70
Tableau X: Génotypes des onze souches de <i>T.congolense</i> type savane aux différents loci étudiés.....	72
Tableau XI: Génotype des vingt souches de <i>T.congolense</i> type forêt aux différents loci étudiés.	73
Tableau XII: Nombre et taille des allèles obtenus avec 5 marqueurs microsatellites utilisés dans la population de <i>Trypanosoma congolense</i> étudiée.....	75
Tableau XIII: Hétérozygoties et tests d'Equilibre de Hardy-Weinberg par locus et par population.....	80
Tableau XIV: Analyse du déséquilibre de liaison entre marqueurs pour la population de <i>T. congolense</i> savane	82
Tableau XV: Analyse du déséquilibre de liaison entre marqueurs pour la population de <i>T. congolense</i> type forêt	83
Tableau XVI: Contribution des trois premiers axes factoriels à l'inertie totale en PCoA de la population <i>T.congolense</i> savane.....	87

Tableau XVII: Contribution des trois premiers axes factoriels à l'inertie totale en ACP de la population *T.congolense* forêt..... 88

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Repartition géographique des 14 zones d'échantillonnages	7
Figure 2 : Distribution géographique des trypanosomoses animales dans le monde (Cuisance <i>et al.</i> , 2003)	9
Figure 3 : Schéma général d'un trypanosome (Deltour, 2004)	12
Figure 4 : Taxonomie des trypanosomes de mammifères (WHO, 2013).....	14
Figure 5: Cycle de développement des trypanosomes (Souley, 2005).	18
Figure 6 : Représentation schématique illustrant le phénomène de la variation antigénique (N'Djetchi, 2018)	19
Figure 7: Photographie d'une glossine (<i>Glossina palpalis palpalis</i>) (Fauret <i>et al.</i> , 2018).	21
Figure 8 : Prélèvement de sang chez le porc (a) et chez le bœuf (b)	38
Figure 9 : Test CATT sur sang total.....	39
Figure 10 : Test CATT sur plasma.....	39
Figure 11 : Tube vacuitaner contenant les différentes phases du produit de centrifugation du sang total.	41
Figure 12 : Elution des trypanosomes par chromatographie sur mini colonne de DEAE-cellulose	42
Figure 13 : Inoculation de sang infecté de bovins et porcins à une souris NMRI saine	43
Figure 14 : Image de révélation de l'ADN de l'espèce <i>T. congolense forêt</i> sur gel d'agarose.	63
Figure 15 : Distribution géographique des trypanosomes rencontrés chez les bovins en Côte d'Ivoire basée sur les résultats PCR.....	67
Figure 16 : Distribution géographique des trypanosomes rencontrés chez les porcs en Côte d'Ivoire basée sur les résultats PCR.....	68
Figure 17 : Profil mono-allélique représentant un homozygote (140-140) détecté chez <i>T. congolense</i>	71
Figure 18 : Profil bi-allélique représentant un hétérozygote (159-168) détecté chez <i>T. congolense</i>	71
Figure 19 : Fréquence allélique par locus de la population <i>T. congolense</i> savane	77
Figure 20 : Fréquences alléliques par locus de la population <i>T. congolense</i> forêt.....	79

Figure 21 : Estimation du F_{IS} par locus et sur l'ensemble des loci, intervalles de confiance (95 %) pour la population de <i>T. congolense</i> savane.	81
Figure 22 : Estimation du F_{IS} par locus et sur l'ensemble des loci, intervalles de confiance (95%) pour la population de <i>T.congolense</i> Forêt.	81
Figure 23 : Dendrogramme obtenu selon la méthode du NJTree sur la matrice de distance de Cavalli-Sforza et Edwards <i>T.congolense</i> savane.....	85
Figure 24 : Dendrogramme obtenu selon la méthode du NJTree sur la matrice de distance de Cavalli-Sforza et Edwards pour la population <i>T.congolense</i> forêt.....	86
Figure 25: Analyse en composantes principales de la population de <i>T. congolense</i> type savane.	87
Figure 26: Analyse en composantes principales de la population de <i>T.congolense</i> type forêt	88
Figure 27: Représentation de l'isolement par la distance entre les individus de <i>T. congolense</i> savane	89
Figure 28 : Représentation de l'isolement par la distance entre les individus de <i>T. congolense</i> forêt.	90

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Questionnaires épidémiologiques et cliniques

Annexe II : Protocole du Kit d'extraction QIAGEN

Annexe III : Programme d'amplification de l'ADN

Annexe IV : Populations échantillonnées par village prospectés

INTRODUCTION

Les trypanosomoses africaines sont des maladies parasitaires qui affectent aussi bien l'homme que les animaux en Afrique subsaharienne. La forme retrouvée chez l'homme est appelée la Trypanosomose Humaine Africaine (THA) ou maladie du sommeil, et celle retrouvée chez les animaux domestiques et sauvages, la Trypanosomose Animale Africaine (TAA) (Buscher *et al.*, 2017). Ces parasitoses sont provoquées par la présence des trypanosomes du genre *Trypanosoma*, dans les liquides biologiques (sang, lymphe, liquide céphalo-rachidien) et dans divers tissus de leurs hôtes (humains et animaux) (Mwamba & Malekani, 2017 ; Tweneboah *et al.*, 2021). Les trypanosomes sont transmis aux animaux domestiques par divers insectes hématophages, dont les plus importants sont les glossines ou mouches tsé-tsé. Il existe vingt-deux (22) espèces de glossines dont *Glossina palpalis*, qui constitue l'hôte intermédiaire véritable des trypanosomes (Mwamba & Malekani, 2017 ; Berté *et al.*, 2019). Alors que la THA a atteint le point où l'élimination est possible (Koné *et al.*, 2021 ; Franco *et al.*, 2022), la TAA reste l'une des plus importantes menaces d'ordre sanitaire pour les animaux d'élevages (Lord *et al.*, 2018). La TAA affecte un large éventail d'hôtes, à savoir les chèvres, les moutons, les porcs, les bovins, etc.... (Katabazi *et al.*, 2021). Dans le monde, environ 55 millions de têtes de bétail, 30 millions d'ovins et 40 millions de caprins sont exposés au risque d'infection trypanosomienne (Signaboubo *et al.*, 2021). Lorsqu'ils n'en meurent pas, les animaux infectés sont émaciés et anémiques ; Ce qui occasionne, des réductions significatives de la production de lait et de viande (Lord *et al.*, 2018 ; Abro *et al.*, 2021). Les décès liés à la TAA et les autres coûts liés à la prévention et au traitement correspondent à une perte annuelle directe d'environ 1 à 4 milliards de dollars US dans le monde. La TAA est une contrainte importante pour la plupart des économies dépendantes de l'élevage en Afrique subsaharienne, car elle entraîne des pertes économiques de productivité agricole d'environ 20 % (Assefa & Shibeshi, 2018). L'élevage étant surtout pratiquée par les communautés rurales, la TAA entrave le développement de ces communautés (Assefa & Shibeshi, 2018).

De toutes les espèces de trypanosomes responsables de la Nagana, *Trypanosoma congolense* du sous-genre *Nannomonas* est le plus important, de par sa fréquence, sa pathogénicité et ses conséquences sur la productivité (Ngumbi *et al.*, 2020 ; Chantal & Berthier, 2021). L'infection à *T. congolense* se traduit chez les animaux domestiques par un syndrome de gravité variable. En effet, tous les modes d'évolution sont possibles: de l'infection aiguë mortelle en quelques semaines, à l'infection chronique durant des mois (Tihon *et al.*, 2017 ; Kuriakose *et al.*, 2019). Les outils génétiques tels que les isoenzymes, les sondes d'ADN, et les séquences d'ADN microsatellites ont révélé une diversité génétique considérable chez *T.*

congolense (Simo *et al.*, 2013 ; Fogue *et al.*, 2017 ; Tihon *et al.*, 2017) qui serait à l'origine de la diversité des signes cliniques observés chez les animaux infectés. Ainsi, trois principaux groupes écogéographiques ont été décrits. Il s'agit de :

- *T. congolense* type « savane » très pathogène qui est retrouvé en zone de savane,
- *T. congolense* type « forêt » moins pathogène qui sévit en zone forestière,
- *T. congolense* type kilifi, non pathogène pour les bovins, identifiés au Kenya et en Ouganda (Fogue *et al.*, 2017 ; Chantal *et al.*, 2021).

Les stratégies de lutte communément appliquées contre la TAA consistent à agir soit sur le vecteur, soit sur la résistance naturelle de certaines races d'animaux en y associant la gestion des parcours (pour les animaux transhumant), afin d'éviter le contact avec les glossines, soit sur l'agent causal par l'utilisation de produits trypanocides. Cependant, la résistance aux trypanocides se développe rapidement et a été rapportée dans plusieurs pays (Assefa & Shibeshi, 2018 ; Wangwe *et al.*, 2019). Ces phénomènes de résistance sont dus à des mutations opérées sur les gènes ciblés par les molécules thérapeutiques. En effet, les mutations occasionnent une variabilité génétique des souches parasitaires rendant ainsi les traitements difficiles. Une nouvelle approche de cette stratégie de lutte serait donc d'étudier cette variabilité génétique au sein des souches de trypanosomes.

En Côte d'Ivoire, l'élevage demeure une activité économique secondaire avec une contribution de 4,5 % au PIB agricole et de 2 % au PIB total (Dagnogo, 2022). Le pays, malgré ses potentialités pastorales est largement tributaire des importations pour la satisfaction de ses besoins en viande et dérivés animales. L'un des facteurs limitant le développement de ce secteur d'activité se trouve être la persistance de maladies parasitaires au premier rang desquels, la TAA (Acapovi-yao *et al.*, 2013). En effet, tout le territoire ivoirien est infesté par les mouches tsé-tsé (Boka *et al.*, 2019) et de ce fait plus de 1,2 million de bovins et 411 520 porcs sont soumis au risque de contracter la TAA (Eugène *et al.*, 2021). Pour lutter contre cette parasitose, le gouvernement a mis en place, en 1978, un programme de lutte contre la TAA dont les activités ont permis de réduire l'incidence de la parasitose (Acapovi-Yao *et al.*, 2013). Malheureusement, la décennie de la crise socio-politique traversée par le pays (2002-2011) marquée par l'absence de services de santé vétérinaire et de programmes de surveillance épidémiologique a provoqué la résurgence de la maladie avec des prévalences d'infections pouvant atteindre 25 % dans certaines régions (Bonon, Sinfra) (Koffi *et al.*, 2014 ; N'Djetchi *et al.*, 2017). Mais, la méconnaissance de la situation épidémiologique dans la plupart des régions du pays rend complexe la lutte contre la TAA. Parallèlement à ce constat, plusieurs

travaux dont ceux de Kouadio *et al.* (2014) et d'Acapovi-yao *et al.* (2016) ont montré que *T. congolense* reste largement répandue chez les animaux domestiques en Côte d'Ivoire.

Au vue de cette situation, la stratégie de lutte durable contre les TAA en Côte d'Ivoire doit être repensée, ceci en y intégrant les aspects de la diversité génétique et la structuration des populations des parasites. Cette étude a été initiée dans le but de faire une mise à jour des données sur la distribution géographique de la TAA en Côte d'Ivoire, et d'investiguer la diversité génétique de *T. congolense*, agent principale de la Nagana.

Ainsi, l'objectif général de cette étude est de contribuer à la lutte durable contre la TAA en Côte d'Ivoire.

Plus spécifiquement, il s'agit de :

- déterminer la distribution géographique de la TAA en Côte d'Ivoire;
- déterminer la diversité et la structuration génétique des populations de *T. congolense* chez les animaux domestiques;
- estimer l'association entre la distribution géographique de *T. congolense* et ses paramètres génétiques

Le présent mémoire de thèse comporte trois chapitres hormis l'introduction et la conclusion. Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les trypanosomoses animales qui portent essentiellement sur la définition, la repartition géographique et l'épidémiologie. Il présente également des notions de diversité génétique et les techniques pour son étude. Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisées pour atteindre les objectifs déclinés. Dans le troisième chapitre sont présentés les résultats obtenus et la discussion qui en découle.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITES

1.1. Zone d'étude

Située en Afrique de l'Ouest, entre l'Equateur et le Tropique du Cancer (4 °15 et 10 °43 de latitude Nord et 2 °30 et 8 °32 de longitude Ouest), la république de Côte d'Ivoire s'étend sur une superficie de 322 462 km². Elle a pour limite à l'Ouest le Liberia et la Guinée, au Nord, le Mali et le Burkina Faso, à l'Est, le Ghana et au Sud, l'Océan Atlantique. La population est estimée à 22 671 331 millions d'habitants en 2014 (Kouassi *et al.*, 2021) dont 26 % d'immigrés provenant principalement des pays de la sous-région. La Côte d'Ivoire se divise en trois zones climatiques. Au sud, le climat côtier, subéquatorial, est marqué par des températures toujours supérieures à 18 °C, une forte humidité et une amplitude thermique pratiquement nulle. Les précipitations de cette zone (2500 mm en moyenne) sont réparties entre deux saisons de pluies (avril-août et septembre-novembre); les températures toujours élevées oscillent entre 21 °C et 33 °C. Au centre du pays, les pluies sont moins abondantes (de 1000 à 2500 mm) et les températures sont comprises entre 14 °C et 39 °C). Au nord, le climat est de type tropical soudanien, avec une saison faiblement humide (mai-octobre) et une saison sèche (novembre-avril) placée sous l'influence de l'harmattan (vent sec et chaud du Sahara) ; l'amplitude thermique y est marquée, les températures variant de 10 °C à 42 °C. La Côte d'Ivoire comprend trois grandes zones agro-écologiques (Abo *et al.*, 2017):

- une forêt dense humide (ou zone guinéenne) au sud,
- une zone de transition forêt-savane humide (ou zone soudano-guinéenne) au centre,
- une savane humide (ou zone soudanienne) au nord.

La zone guinéenne est la plus densément peuplée, en raison des fortes migrations dont elle a été l'objet. En effet, la zone forestière qui représente 47 % de la superficie totale du territoire national, concentre à elle seule 78 % de la population totale contre 22 % pour la zone des savanes. Une des conséquences de ce phénomène est la pression sur les terres cultivables et l'atteinte prononcée du couvert forestier (Fauret *et al.*, 2018).

La Côte d'Ivoire est un pays essentiellement agricole. Le cheptel ivoirien en 2013 était constitué d'environ 1 585 585 bovins, 1 725 207 ovins, 1 378 941 caprins et 362 693 porcins répartis sur toute l'étendue du territoire ivoirien (Ducroquet *et al.*, 2017). L'élevage des bovins est à plus de 95 % traditionnel. Le système d'élevage est de type extensif, sédentaire ou semi-transhumant. Le cheptel est concentré à 85 % dans la zone Nord du pays. Le reste du troupeau est reparti entre le Centre du pays (10 %) et le Sud (5 %).

Les présents travaux de recherche ont eu pour cadre 14 départements de la Côte d'Ivoire (Figure 1) qui se différencient par leurs caractéristiques agropastorales. Ces départements ont été choisis

sur la base des données du Programme National d'Élimination de la THA (PNETHA) et du Projet de Recherches Cliniques sur la THA (PRCT). Les zones du Centre-Ouest et de l'Ouest sont des foyers hypo-endémiques de THA. Au cours de la dernière décennie, des cas ont été dépistés passivement dans ces zones. Les zones du Nord et de l'Est sont des foyers historiques de THA et les zones du Sud-Ouest n'ont pas connues de foyers typiques de THA même si quelques cas ont déjà été dépistés dans ces zones.

Il s'agit des:

- départements de Ferkessedougou et Bouna, situés dans le nord du pays connu pour leur grande capacité agropastorale ;
- départements de Man, Danané, Duékoué, Guiglo situés dans l'Ouest ; départements de Vavoua, Bonon, Sinfra, situés au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire, qui sont essentiellement des zones de transhumances du bétail ; des départements de Soubré situé au Sud-Ouest, San-Pédro, Sassandra, situés au Sud-Ouest du pays où l'activité d'élevage est peu pratiquée ;
- départements d'Abengourou et d'Aboisso à l'Est.

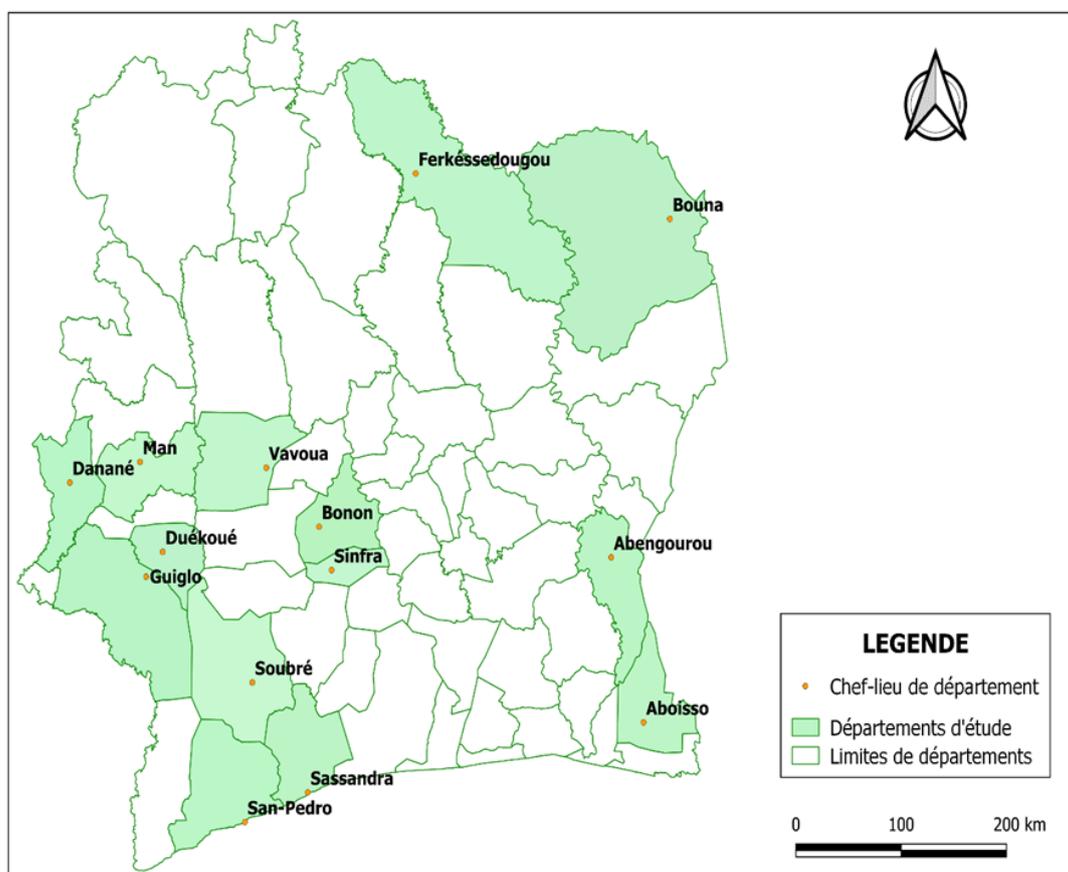


Figure 1 : Repartition géographique des 14 zones d'échantillonnages

1.2. Trypanosomoses animales

1.2.1. Définition et répartition géographique

D'une façon générale, les trypanosomoses animales désignent des maladies parasitaires retrouvées chez les mammifères et causées par des protozoaires flagellés du genre *Trypanosoma*. Ces parasites sont transmis majoritairement de manière cyclique par des insectes hématophages, les glossines (mouches tsé-tsé), mais aussi de manière mécanique par d'autres vecteurs hématophages tels que les Tabanidés et les Stomoxes (Katabazi *et al.*, 2021).

Les trypanosomoses animales sont retrouvées sur tous les continents sous diverses appellations en fonction du trypanosome responsable (Figure 2).

L'identification de ces trypanosomes autrefois basée sur des caractères extrinsèques tels que la spécificité d'hôte et le pouvoir pathogène a nettement été améliorée grâce aux outils de la biologie moléculaire. Cela à travers l'étude de l'ADN nucléaire ou mitochondrial de ces parasites, par électrophorèse des isoenzymes ou par comparaison des répertoires antigéniques de surface par test de lyse et la PCR (Richardson *et al.*, 2017; Miller *et al.*, 2020 ; Ngumbi & Mnyone, 2020). Ainsi, l'apport de la génétique moléculaire a permis de préciser l'identification des souches de trypanosomes pathogènes retrouvées dans le monde (Richardson *et al.*, 2017).

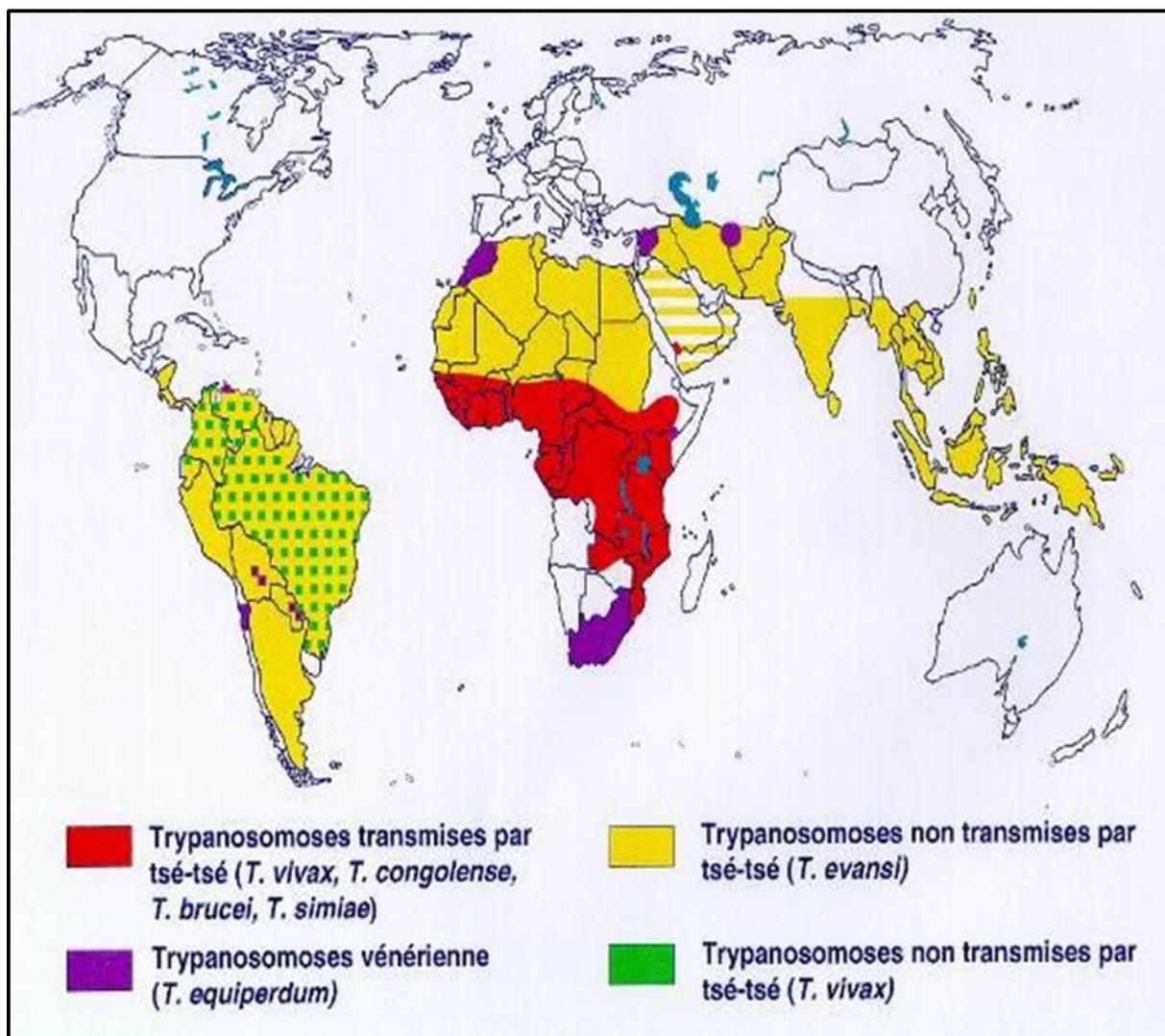


Figure 2 : Distribution géographique des trypanosomoses animales dans le monde (Cuisance *et al.*, 2003)

1.2.2. Trypanosomose Animale Africaine (TAA) et répartition géographique

En Afrique intertropicale, le terme trypanosomose animale africaine (TAA) ou Nagana est utilisé pour désigner les maladies dues aux trypanosomes d'animaux typiquement africains. Il s'agit de *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma brucei brucei*, *Trypanosoma simiae*, *Trypanosoma evansi*, transmis cycliquement par les glossines et *Trypanosoma vivax* transmis à la fois mécaniquement par les Tabanidés et les Stomoxes et de façon cyclique par les glossines.

1.2.2.1. *Trypanosoma brucei* s. l

T. brucei comprend trois sous-espèces : *T.b. gambiense*, *T.b. rhodesiense* et *T.b. brucei*. La sous-espèce *T.b gambiense* provoque la forme chronique de la maladie du sommeil en

Afrique de l'ouest et centrale. Il a été décrit au sein de cette sous espèce une individualité génétique appelée "groupe 1" qui regroupe la plupart des souches d'origine humaine et quelques souches isolées chez l'animal. Il existe un second groupe génétique appelé « groupe 2 » très hétérogène correspondant à des souches isolées chez l'homme mais différentes de celles du groupe 1 et plus proches génétiquement des deux autres sous-espèces de *T. brucei* (Capewell *et al.*, 2011 ; Jamonneau *et al.*, 2019). La sous-espèce *T.b. rhodesiense* est responsable de la forme aiguë en Afrique orientale et australe, et la sous-espèce *T.b. brucei* qui sévit en Afrique intertropicale, est responsable de la TAA chez l'animal, théoriquement non transmissible à l'homme (Capewell *et al.*, 2011 ; Jamonneau *et al.*, 2019).

1.2.2.2. *T. vivax*

T. vivax est un parasite reconnu en Afrique intertropicale comme étant le plus répandu chez les bovins (Ganyo *et al.*, 2018). Il peut être transmis cycliquement et mécaniquement par les glossines et mécaniquement par d'autres insectes piqueurs comme les Tabanidés et les Stomoxes (Mounioko *et al.*, 2017 ; Rodriguez *et al.*, 2017). Il est également retrouvé en Amérique du Sud où la transmission est uniquement de type mécanique. Plusieurs études génétiques sur différentes souches de *T. vivax* ont permis de comprendre l'histoire évolutive de cette espèce (Rodriguez *et al.*, 2017 ; Ganyo *et al.*, 2018).

1.2.2.3. *T. congolense*

C'est l'agent principal de la TAA, et probablement le trypanosome africain ayant la plus grande incidence économique en Afrique, de par sa fréquence, sa pathogénicité et ses conséquences sur la productivité (Tihon *et al.*, 2017). Essentiellement pathogène chez les ruminants, cette espèce parasite également les porcs et les équidés en Afrique de l'Ouest (Nimpaye *et al.*, 2011). *T. congolense* comprend actuellement trois sous-espèces reconnus, à savoir *T. congolense* type « forêt », *T. congolense* type « savane », *T. congolense* « Kilifi » retrouvées de façon endémique dans des zones écogéographiques bien différentes (Ngumbi & Mnyone, 2020).

- Le type "Savane" se rencontre dans les zones de savane d'Afrique de l'Ouest et de l'Est (zone sèche) ;

- Le type "Forêt" regroupe les parasites des zones de forêt de toute l'Afrique (zones humides) ;

- Le type "Kilifi", initialement identifié sur la côte Est du Kenya (Kilifi), a aussi été décrit en Ouganda.

Ces variants de *T. congolense* sont pathogènes et développent une parasitémie élevée accompagnée d'anémie et de leucopénie. Cependant, il existe de nettes différences de pathogénicité entre les différents types de *T. congolense* et même au sein d'un même type. Des études expérimentales comparant la pathogénicité d'une souche de chaque sous-groupe chez les souris et les bovins, ont montré des différences entre les sous-groupes. La souche *T. congolense* du sous-groupe Savanne étant la plus pathogène (Nimpaye *et al.*, 2011).

1.2.2.4. *T. simiae*

Ce trypanosome a été découvert pour la première fois chez le singe (Wargnies, 2016). Il parasite essentiellement les Suidés et est très pathogène pour le porc (Wargnies, 2016). La pathogénicité chez le porc représente un critère de discrimination entre *T. congolense* et *T. simiae*. Cette espèce est rarement rencontrée chez les Bovidés, les Equidés et les Félidés (Wargnies, 2016).

1.2.2.5. *T. evansi*

T. evansi est l'espèce la plus répandue dans le monde (Büscher *et al.*, 2019). Ce parasite transmis par les Tabanides et les Stomoxes cause la surra chez les camélidés, les équidés et parfois les bovidés en Asie, en Afrique du nord, au moyen Orient, en Amérique centrale et du sud. Il est aussi responsable de la TAA chez les chauve - souris vampires en Amérique latine (Elhaig *et al.*, 2016 ; Cuypers *et al.*, 2017). Des cas d'importations sporadiques ont également été observés en Europe (Büscher *et al.*, 2019).

1.2.3. Épidémiologie de la Trypanosomose Animale Africaine

L'épidémiologie est l'étude des rapports existant entre une maladie et les facteurs susceptibles d'exercer une influence sur sa fréquence, sa distribution et son évolution. Dans le cas de la TAA, trois facteurs sont impliqués à savoir : les hôtes mammifères (aussi réservoirs), les agents étiologiques de la maladie (les parasites) et les vecteurs. Les relations entre ces entités sont fortement influencées par les changements climatiques et les transformations dues aux activités humaines (Bemba *et al.*, 2022).

1.2.3.1. Agents étiologiques

1.2.3.1.1. Description

Les trypanosomes sont des protozoaires microscopiques, unicellulaires, se présentant sous une grande variété de forme et de taille suivant les genres, dont la locomotion est assurée par un unique flagelle (Figure 3). Ce sont des parasites obligatoires ayant deux hôtes :

- un hôte vertébré (mammifère), chez qui ils sont retrouvés dans les liquides physiologiques, le sang en particulier, mais également dans certains tissus comme le derme (Caljon *et al.*, 2016 ; Capewell *et al.*, 2016) et dans les tissus adipeux (Trindade *et al.*, 2016) ;
- un hôte invertébré, généralement un insecte piqueur, vecteur à transmission cyclique (glossines) ou mécanique (Taons, Stomoxes, etc.), chez lequel ils vivent dans le tractus digestif (Weiss *et al.*, 2019 ; Dean, 2021).

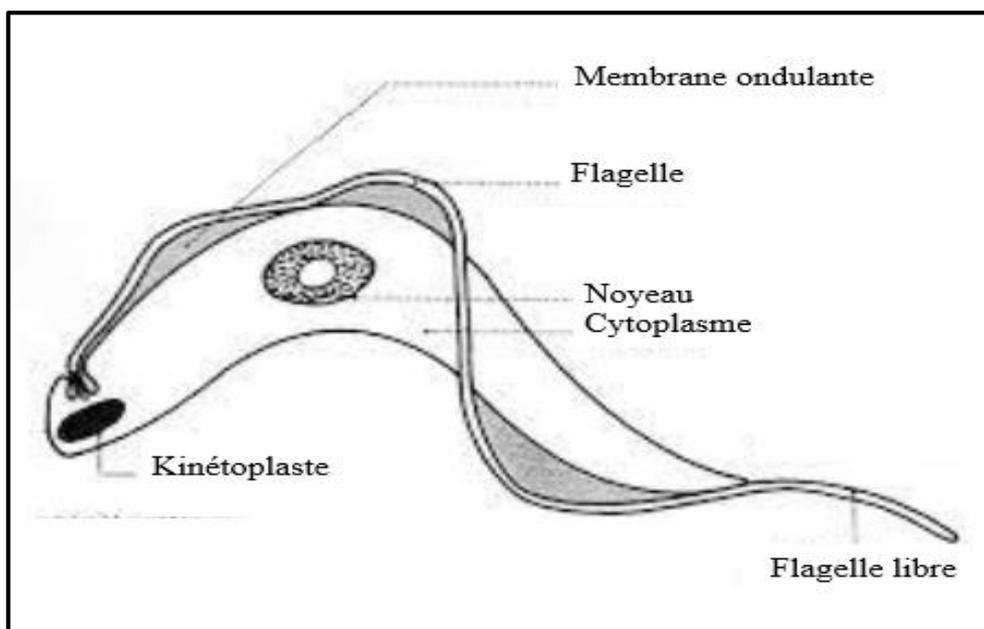


Figure 3 : Schéma général d'un trypanosome (Deltour, 2004)

1.2.3.1.2. Systématique des trypanosomes

Les trypanosomes appartiennent à l'embranchement des *Sarcomastigophora*, à l'ordre des *Kinétoplastida*, à la famille des *Trypanosomatidae* et au genre *Trypanosoma* (Figure 4). Le genre *Trypanosoma* comporte huit sous-genres regroupés en deux sections selon le mode de transmission :

- la section *Stercoraria* : comporte les trypanosomes à évolution postérograde chez le vecteur. Leur transmission chez l'hôte vertébré s'effectue par déjection contaminant. Cette section comprend trois sous-genres (WHO, 2013) : *Megatrypanum* (*T. theileri*), *Herpetosoma* (*T. lewisi*) et *Schizotrypanum* (*T. cruzi*, *T. rangeli*).
- la section *Salivaria* : comporte les trypanosomes à développement antérograde chez le vecteur. Cette section regroupe tous les trypanosomes africains dont la plupart est transmise par les glossines (WHO, 2013). Il s'agit des sous-genres *Duttonella* (*T. vivax*, *T. uniforme*), *Trypanozoon* (*T. brucei* s.l., *T. evansi*, *T. equiperdum*), *Pycnomonas* (*T. suis*) et *Nannomonas* (*T. congolense*, *T. simiae*, *T. godfreyi*). La transmission est effectuée par inoculation, lorsque le

vecteur injecte sa salive au moment de la piqûre qui précède immédiatement la prise d'un repas sanguin. Les principaux trypanosomes d'intérêt vétérinaire appartiennent tous à cette section.

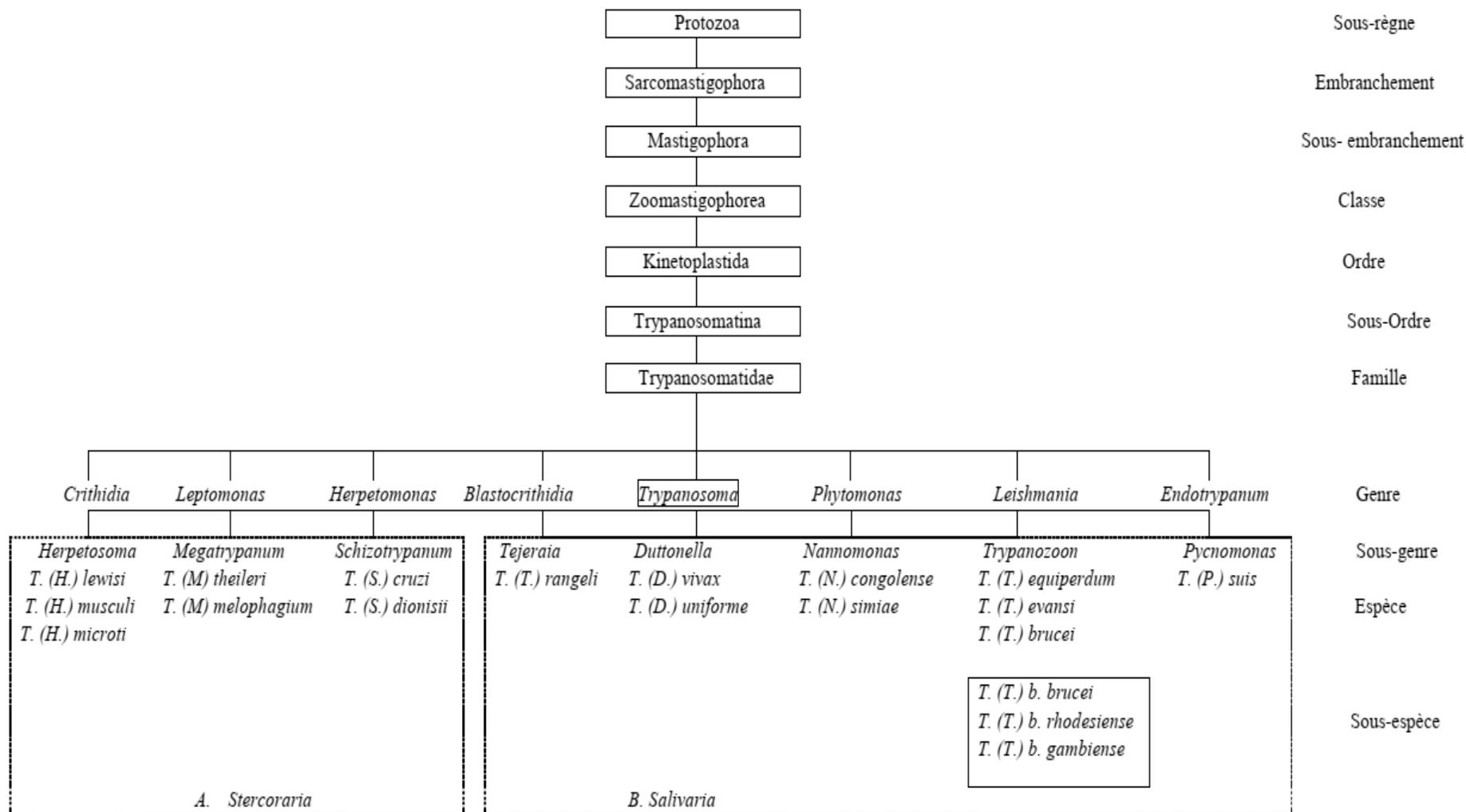


Figure 4 : Taxonomie des trypanosomes de mammifères (WHO, 2013)

1.2.3.1.3. Génome des trypanosomes

Les trypanosomes sont des organismes diploïdes. Le matériel génétique porté par l'ADN est localisé dans le noyau (ADN nucléaire) et dans le kinétoplaste (ADN kinétoplastique).

1.2.3.1.3.1. ADN nucléaire

Les chromosomes observés dans le noyau se répartissent en 3 catégories selon la taille. Ce sont les mini-chromosomes, les chromosomes intermédiaires et les méga-chromosomes (Wagnies, 2016).

Les mini-chromosomes sont les plus nombreux (une centaine) avec une taille comprise entre 50 et 250 kilobases (Kb).

Les chromosomes intermédiaires au nombre de 20 à 50 sont de taille comprise entre 250 et 700 Kb.

Les gros chromosomes, dont la taille est supérieure à 1000 Kb, sont au nombre de 15 à 20.

1.2.3.1.3.2. ADN kinétoplastique

L'ADN kinétoplastique (ADNk) est composé de plusieurs milliers de molécules circulaires de deux types, les minicercles et les maxicercles, qui sont interconnectées pour former un seul réseau d'ADN (Wagnies, 2016 ; Cuypers *et al.*, 2017).

Les minicercles, d'une taille d'environ 1 Kb, sont formés d'une région conservée de 100 à 150 Pb et d'une région variable de 850 à 900 Pb. Une séquence de 12 nucléotides présente sur la région conservée est hautement préservée d'une espèce à l'autre, voire d'un genre de *kinetoplastidae* à l'autre. Les mini-cercles sont néanmoins très variables au sein d'une même espèce et varient même au sein d'une souche (Wagnies, 2016 ; Cuypers *et al.*, 2017).

Les maxicercles sont les homologues fonctionnels de l'ADN mitochondrial des autres eucaryotes. Ils sont longs d'environ 23 kb et sont présents en quelques dizaines de copies. Ils contiennent les gènes codant pour les ARN ribosomiaux (ARNr) ainsi que pour 17 protéines mitochondriales. Les gènes codant pour ces protéines sont organisés en unités polycistroniques et leurs transcriptions nécessitent une étape d'édition d'ARN. Les maxicercles sont d'un intérêt non moins important, car ils peuvent être utilisés comme outil de diagnostic (Wagnies, 2016 ; Cuypers *et al.*, 2017).

1.2.3.1.4. Mode de reproduction

La question du mode de reproduction des trypanosomatides fait l'objet d'un débat entre deux écoles de pensées différentes. D'une part, il y a ceux qui, sur la base des résultats de la génétique des populations, défendent depuis de nombreuses années, la reproduction asexuée ou l'évolution clonale prédominante de ces parasites eucaryotes unicellulaires (Tibayrenc & Ayala, 2012 ; Tibayrenc & Ayala, 2015). D'autre part, il y a ceux qui, aidés par des outils moléculaires, défendent la sexualité de ces espèces comme un mode de reproduction alternatif en se basant sur les résultats d'études expérimentales d'hybridation en laboratoire. Il est maintenant connu que certains de ces parasites dont la reproduction a été classiquement expliquée par la théorie clonale, sont capables de se reproduire sexuellement (Peacock *et al.*, 2011 ; Simo *et al.*, 2013). En outre, les études sur le polymorphisme des gènes ont indiqué que les processus de ségrégation et de recombinaison, qui sont des indicateurs typiques de la reproduction sexuée, sont apparus à des niveaux très élevés (Peacock *et al.*, 2011 ; Maslov *et al.*, 2019). Cette reproduction se déroule au sein des vecteurs, mais elle ne se présente pas de la même façon chez les différentes espèces de parasite.

1.2.3.1.5. Cycle de développement des trypanosomes des animaux domestiques

1.2.3.1.5.1. Chez l'insecte vecteur : *Glossina palpalis*

La contamination des glossines se fait lors d'un repas sanguin sur un hôte infecté. Au cours de ce repas, les glossines absorbent des formes trypomastigotes courtes. Ces dernières subissent des transformations et des réplifications au niveau de l'appareil digestif de la mouche pour donner des formes allongées dites trypomastigotes procycliques (Figure 5) (Cordon-Obras *et al.*, 2015). Si l'on prend l'exemple de *T. brucei*, les trypomastigotes procycliques subissent à leur tour des transformations en perdant notamment leur membrane de glycoprotéine. Elles migrent par la suite vers les glandes salivaires de la mouche. A ce niveau, les trypomastigotes procycliques se fixent sur les parois du labre par leur flagelle et se transforment en épimastigotes. Ensuite, les épimastigotes se transforment à leur tour en trypomastigotes métacycliques avec l'apparition du manteau antigénique de nature glycoprotéique. Ces formes infectantes matures se détachent des cellules épithéliales salivaires et restent dans la salive par laquelle elles seront transmises à l'hôte lors du prochain repas sanguin. Chez la glossine, la durée et le siège du cycle évolutif sont variables d'un trypanosome à l'autre (Rotureau & Van Den Abbeele, 2013).

Dans le cas de *T. congolense*, la durée du cycle est en moyenne de 12 à 14 jours. Il commence au niveau de l'intestin moyen de la mouche pour finir au niveau des pièces buccales (trompe puis hypopharynx).

Chez *T. vivax*, le cycle dure 5 à 13 jours, il se déroule essentiellement au niveau du proboscis. Le cycle de *T. brucei* est le plus complexe et sa durée est relativement longue ; elle varie de 20 à 30 jours. Une fois ingérées, les formes trypomastigotes se retrouvent dans l'intestin moyen, puis le cycle de développement continue au niveau de la trompe, de l'hypopharynx et s'achève dans les glandes salivaires. On retrouve alors dans les glandes salivaires les métatrypanosomes ou trypomastigotes métacycliques qui restent dans la salive, jusqu'au repas sanguin infectant l'hôte.

1.2.3.1.5.2. Chez l'hôte mammifère

Lors du repas sanguin, la glossine injecte à l'hôte des formes métacycliques infectantes présentes dans ses pièces buccales (Figure 5). Les trypomastigotes métacycliques se multiplient au point d'inoculation pendant plusieurs jours. Ils sont par cette action, à l'origine d'une réaction inflammatoire appelée chancre d'inoculation. Puis les trypanosomes migrent vers le ganglion de drainage en empruntant la voie lymphatique avant d'être dans la circulation générale. La période prépatente varie de 1 à 3 semaines, cette durée est fonction de l'espèce et de la souche de trypanosome, du nombre de trypanosomes injectés et de certaines conditions favorisantes comme l'état immunitaire de l'hôte (Cordon-Obras *et al.*, 2015 ; Wagnies, 2016).

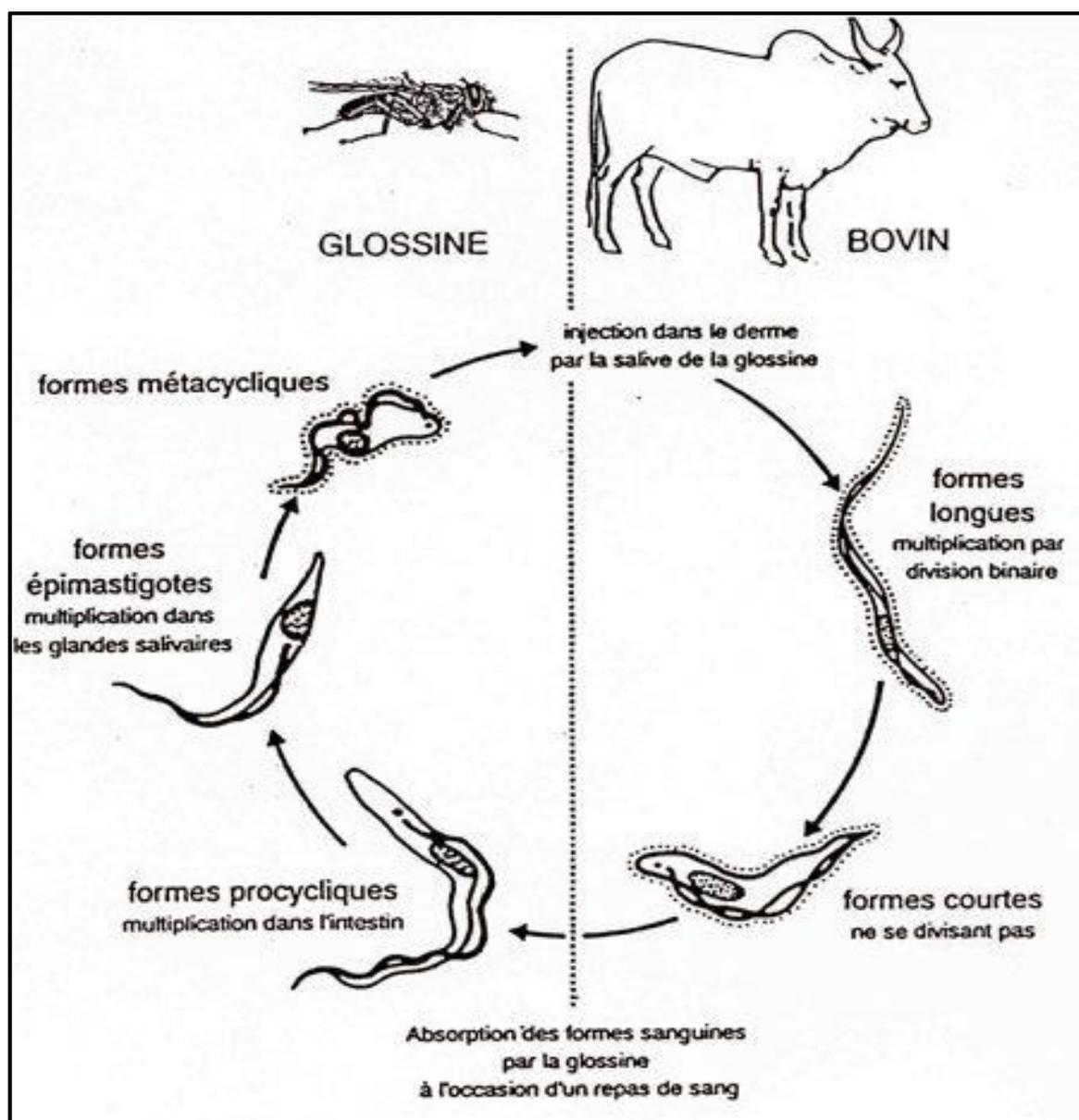


Figure 5: Cycle de développement des trypanosomes (Souley, 2005).

1.2.3.1.6. Particularité des trypanosomes : variabilité antigénique

La variabilité antigénique est le phénomène par lequel les trypanosomes échappent aux défenses de l'hôte mammifère infecté. En effet, les trypanosomes échappent aux défenses immunitaires de leur hôte mammifère grâce à la variation continue de leur antigène de surface majeur appelée glycoprotéine variable de surface (GVS), limitant pratiquement tout espoir de vaccination dirigée contre les trypanosomes (Horn, 2014 ; Wagnies, 2016). On distingue globalement des types antigéniques dominants variants dits « majeurs », qui s'expriment en début d'infection et des variants tardifs dits « mineurs », qui apparaissent ultérieurement (Matthews *et al.*, 2015). Au tout début d'une infection par le trypanosome, les lymphocytes B du mammifère produisent des anticorps capables de se lier aux GVS particulières qu'ils

reconnaissent sur l'enveloppe de surface de cette première population de parasites. Ces anticorps tuent environ 99 % de cette population initiale. Mais quelques individus qui ont activé un gène codant une GVS différente échappent à la destruction. La multiplication de ce nouveau variant aboutit à l'émergence d'une nouvelle population de parasites antigéniquement distincte de la première (Figure 6).

Ainsi, l'apparition séquentielle des variants antigéniques au cours du processus, permet continuellement aux trypanosomes d'échapper au système immunitaire de l'hôte (Matthews *et al.*, 2015).

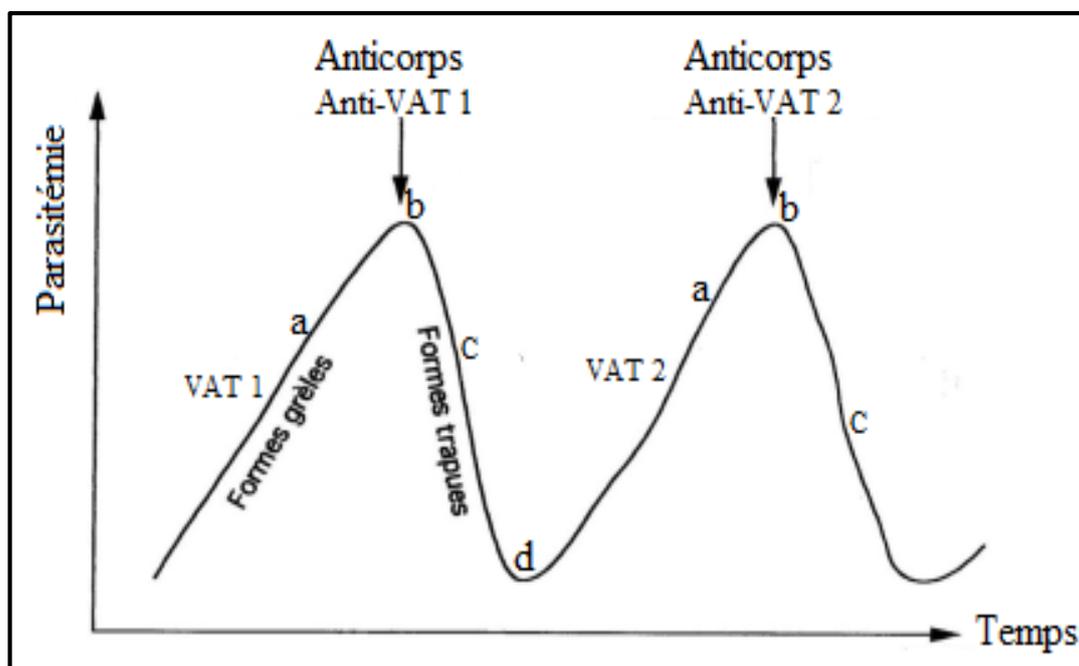


Figure 6 : Représentation schématique illustrant le phénomène de la variation antigénique (N'Djetchi, 2018)

Les trypanosomes inoculés, revêtant tous la même couverture antigénique (VAT 1) se transforment rapidement en formes grêles et se multiplient activement dans le système lymphatico-sanguin de l'hôte pour former une population VAT 1 (a). Une réaction immunitaire à médiation humorale (fabrication d'anticorps anti-VAT 1) combat rapidement cette première invasion (b) et la plupart des trypanosomes sont détruits (c). Les survivants évoluent en forme trapue, sous laquelle ils peuvent changer leur couverture antigénique pour former une nouvelle population VAT 2 (d). Les trypanosomes reprennent leur forme grêle de division et sont à l'origine d'une deuxième vague parasitémique responsable d'une nouvelle réaction immunitaire (fabrication d'anticorps anti-VAT 2).

1.2.3.2. Hôtes nourriciers

Potentiellement, tous les mammifères domestiques peuvent être atteints de trypanosomose, et peuvent manifester des signes cliniques et une diminution de la productivité, pouvant se traduire par la mort si la maladie n'est pas soignée. Toutefois, on distingue des races très sensibles à la maladie (bovins zébu, ovins Bali-Bali) et des races autochtones (taurins *Bos taurus* : races Baoulés, N'Dama, Somba ; ovins « Djallonké » ; caprins : chèvre naine de Guinée) qualifiées de trypanotolérantes car elles peuvent survivre dans des zones où les races sensibles ne le pourraient pas. La faune sauvage est également infectée par les trypanosomes, mais elle semble bien tolérer le parasite de manière générale. Cette caractéristique fait que l'on considère souvent le gibier comme un réservoir de trypanosomes humains et/ou animaux (Mehlitz & Molyneux, 2020) sans pour autant avoir démontré l'identité génétique des trypanosomes entre les différents compartiments des cycles. L'homme est aussi infecté, uniquement par *T. brucei* type *gambiense* en Afrique de l'Ouest et Centrale, et par le type *rhodesiense* en Afrique de l'Est. Il faut noter que l'homme possède des facteurs lytiques (lipoprotéines de haute densité, par exemple) lui permettant d'éliminer les autres trypanosomes (*T. congolense*, *T. vivax*, *T. b. brucei*). Toutefois, il peut arriver que certains de ces taxons soient identifiés chez l'homme (Truc *et al.*, 2013 ; Ibrahim *et al.*, 2021).

1.2.3.3. Vecteurs de la maladie

La transmission des trypanosomes aux mammifères est réalisée par des insectes hématophages. Ces insectes sont des arthropodes essentiellement des glossines (vecteurs biologiques) ou des vecteurs mécaniques (Stomoxes, Tabanidés, Tiques).

1.2.3.3.1. Glossines

1.2.3.3.1.1. Description

Les glossines, communément appelées mouches tsé-tsé (Figure 7), sont des diptères hématophages du genre *Glossina* appartenant à la famille des *Glossinidae* (Hordofa & Haile, 2017). Adultes, ce sont des mouches de couleurs sombres ou brunâtres, plutôt robustes et allongées sur une taille variant de 6 à 14 mm (Sawadogo *et al.*, 2017). Les mâles sont en général plus petits que les femelles. Facilement reconnaissable au repos par leurs ailes pliées comme des ciseaux fermés, les glossines sont majoritairement diurnes et leur activité dépend de facteurs climatiques comme la température, l'humidité, la luminosité, le vent et la pluviosité (Essonno, 2015, Hordofa & Haile, 2017). L'activité de ces diptères est motivée par la recherche de nourriture, d'un lieu de repos, et chez les mâles par la recherche de femelles.



Figure 7: Photographie d'une glossine (*Glossina palpalis palpalis*) (Fauret *et al.*, 2018).

1.2.3.3.1.2. Distribution géographique des glossines

Les glossines se trouvent exclusivement sur le continent africain. Dans cet espace, les différentes espèces ont chacune une distribution particulière en fonction de leurs besoins (température, humidité, végétation, ...) (Hordofa & Haile, 2017). A ce jour, 31 espèces et sous espèces de glossines ont été décrites et réparties en trois groupes en fonction de leurs exigences écologiques et de leurs capacités vectorielles (Rodhain, 2015 ; Hordofa & Haile, 2017) :

- Le sous-genre *Glossina sensu stricto* ou groupe *Glossina morsitans* : ces glossines vivent en savane arborée, parfois dans des faciès plus arides. En saison sèche, on les retrouve dans les zones plus boisées, près des points d'eau. Elles représentent les vecteurs majeurs des trypanosomoses du bétail et transmettent la trypanosomose humaine africaine à *T. b. rhodesiense* en Afrique Orientale.
- Le sous-genre *Nemorrhina* ou groupe *palpalis* : ces espèces riveraines sont retrouvées autour des cours d'eau et localisées par conséquent en galerie forestière, dans des îlots de forêt, dans les mangroves, sur les rives des lacs. Ce sont les principaux vecteurs de la THA. *Glossina palpalis* transmet *T. b. gambiense* en Afrique Occidentale et Centrale, *Glossina fuscipes*, une espèce riveraine transmet *T. b. gambiense* en Afrique Centrale et *T. b. rhodesiense* en Afrique Orientale.
- Le sous-genre *Austenina* ou groupe *fusca* : ce groupe est retrouvé dans la forêt primaire et leur rôle de vecteur de trypanosomoses n'est qu'exceptionnel. En effet, leur habitat est peu fréquenté par les animaux domestiques et l'homme.

1.2.3.3.1.3. Régime alimentaire

Chez les glossines, les deux sexes sont hémato-phages et se nourrissent principalement de sang de vertébrés. Les femelles prennent de gros repas de sang et se gorgent environ trois fois en dix jours, le temps d'une gestation complète, alors que les mâles prennent de plus petits repas sanguins et se gorgent plus fréquemment (Essonno, 2015). Les glossines se nourrissent sur une gamme diversifiée d'hôtes vertébrés, constituée de mammifères, de reptiles et d'oiseaux. Les Bovidés et les Suidés, constituent les principaux hôtes vertébrés des glossines (Gaithuma *et al.*, 2020). Toutefois, certaines espèces de glossines prennent un nombre considérable de repas sanguins sur les reptiles, principalement les varans et les crocodiles. Le comportement alimentaire des glossines dépend donc de l'espèce. Ainsi, il est possible de constituer cinq groupes d'espèces selon leurs préférences alimentaires (Essonno, 2015 ; Gaithuma *et al.*, 2020):

- le groupe des espèces qui se nourrissent exclusivement des suidés (exemple: *Glossina austeni*, *G. swynnertoni* et *G. tabaniformis*) ;
- le groupe des espèces qui se nourrissent sur des suidés et bovidés (exemple: *G. morsitans*);
- celui des espèces qui se nourrissent essentiellement sur des bovidés (exemple: *G. pallidipes*, *G. fusca* et *G. longipalpis*);
- celui des espèces qui se nourrissent sur d'autres mammifères que les suidés et bovidés (exemple: *G. longipennis* et *G. brevipalpis*);
- enfin le groupe des espèces opportunistes qui se nourrissent sur les hôtes disponibles, y compris l'homme (exemple: *G. palpalis*, *G. fuscipes* et *G. tachinoides*).

Cependant, ces habitudes alimentaires attribuées aux différents groupes d'espèces ne sont pas immuables. Elles varient selon la disponibilité de l'hôte. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle la répartition des glossines est souvent corrélée à celle des hôtes vertébrés. Ce comportement alimentaire leur permet de s'adapter à une biodisponibilité en hôte variable dans le temps et dans l'espace et de coloniser des écosystèmes à niveaux d'anthropisation très variés.

1.2.3.3.1.4. Distribution géographique des glossines en Côte d'Ivoire

Très peu d'études récentes sont disponibles concernant la répartition géographique des glossines en Côte d'Ivoire. Dix espèces et sous-espèces de glossines ont été recensées, dont *Glossina palpalis* et *Glossina tachinoides*, les deux principaux vecteurs de *Trypanosoma brucei* et *Trypanosoma rhodesiens* (Djohan *et al.*, 2015). Les espèces vectrices des trypanosomes spécifiques des animaux (*T. vivax*, *T. brucei*, *T. congolense*) sont, outre les deux espèces

signalées ci-dessus : *G. morsitans submorsitans* et *G. longipalpis* (Cuisance, 1995). La conjugaison de plusieurs facteurs tels que le climat, la densité de la végétation et la présence d'hôtes nourriciers, seraient à l'origine de la prédominance d'une espèce dans une zone donnée. *Glossina palpalis* occupe pratiquement tout le territoire ivoirien (Acapovi-Yao *et al.*, 2013 ; Djohan *et al.*, 2015). Les espaces indemnes de glossines sont les zones sèches, dépourvues de galeries forestières suffisamment importantes. La répartition de *Glossina tachinoides* est beaucoup plus limitée que celle de *G. palpalis*. Elle est retrouvée dans le Nord et dans le Centre en forêt semi-décidue (Küpper *et al.*, 1990). *Glossina longipalpis* occupe toutes les régions de savane et de forêt semi-décidue en évitant le secteur ombrophile (Cuisance, 1995). *G. morsitans submorsitans* fréquente surtout les zones de savane où existent des pâturages. Relativement plus résistantes à la sécheresse que les espèces du groupe *palpalis*, *G. morsitans submorsitans* survit aisément dans des conditions rigoureuses, grâce aux écidoclimats favorables qu'elle découvre par exemple au niveau des troncs d'arbres, des buissons et dans les fourrés. L'analyse du comportement alimentaire de ces glossines montre que ces insectes s'alimentent sur l'hôte le plus accessible, homme ou animal (Acapovi-Yao *et al.*, 2015). Il a été démontré que dans les habitats naturels, les ruminants sauvages étaient de loin la source de nourriture la plus fréquente pour les glossines. Cependant les populations péri-domestiques de *G. longipalpis* et *G. p. palpalis* se nourrissent principalement de porc domestique (Sané *et al.*, 2000 ; Djohan *et al.*, 2015 ; Acapovi-Yao *et al.*, 2015). *G. morsitans submorsitans* dépend pour sa nourriture principalement des bovidés, sauvages ou domestiques (Cuisance, 1995).

1.2.3.3.2. Vecteurs mécaniques

Les trypanosomes peuvent survivre quelques minutes sans se transformer ou se multiplier sur les pièces buccales de certains vecteurs mécaniques. Ces derniers appartiennent à trois familles, les Tabanidés, les Stomoxynés et les Hippoboscidés. Chez les Tabanidés, seule la femelle est hématophage. Leurs répartitions mondiale a d'importantes conséquences médicales. Les Tabanidés induisent une diminution du temps de pâture, à cause du harcèlement des bovins, ainsi que la transmission d'agents pathogènes. La piqûre est très douloureuse et très spoliatrice, jusqu'à 200 mL de sang par bovin par jour. Les Tabanidés participent significativement à la dissémination de *T. vivax* (Fetene *et al.*, 2021) selon certaines conditions climatiques (température élevée, sécheresse), les Stomoxynés, ou mouches des étables, comme les Tabanidés, ont la capacité de réaliser des repas ininterrompus, ce qui augmente donc leur capacité vectrice (Essonno *et al.*, 2015). Les Hippoboscidés sont la cause d'une forte irritation en raison de leur préférence pour les zones où la peau est plus fine. Ils sont

responsables de la transmission de *T. evansi* aux équidés et aux camélidés (Lachtar *et al.*, 2017). En Côte d'Ivoire, très peu de recherches ont été effectuées sur les vecteurs mécaniques des trypanosomoses animales. Les premières études sur les Tabanidés ont été réalisées par Doucet *et al.* (1958) et Taylor & Chainey (1994). Récemment, les travaux de Acapovi-Yao *et al.*, 2017 ont permis d'identifier quatre genres et 12 espèces de Tabanidés dans le nord du pays.

1.2.4. Transmission des trypanosomes aux animaux

1.2.4.1. Transmission vectorielle

Les glossines infectées assurent la transmission biologique de toutes les espèces de trypanosomes toute leur vie. Cette transmission peut se produire lorsqu'un repas interrompu est repris sur un nouvel hôte, car une glossine infectée doit piquer à plusieurs reprises pour se gorger, à l'inverse des mouches saines. Ce phénomène de repas interrompu est également observé chez les Taons et les Stomoxes. Le comportement défensif de l'hôte nourricier oblige alors l'insecte à se déplacer sur un autre hôte. Cette transmission, soit par les glossines, soit par les autres insectes piqueurs, est donc très efficace dans un groupe d'animaux, mais peu probable sur des grandes distances. Les glossines de savanes (*G. morsitans*) présentent les taux d'infection les plus élevés. Elles sont donc beaucoup plus infectieuses que les glossines forestières (*G. palpalis*, *G. fuscipes*, *G. tachinoides*) (Ouedraogo *et al.*, 2018). Les glossines peuvent aussi transmettre plusieurs souches de trypanosomes à la fois ou des souches dites « hybrides » (Ouedraogo *et al.*, 2018), même s'il s'agit d'un phénomène moins courant. Pour cela, deux méthodes sont possibles. La première méthode repose sur l'absorption de sang sur un hôte doublement contaminé. La seconde repose sur une reproduction sexuée (Peacock *et al.*, 2016). La glossine doit être infectée avec une première souche de trypanosome puis être contaminée par une seconde souche. Cette dernière n'infecte pas la glossine de façon durable, mais elle a le temps d'émettre des gamètes. La fusion des gamètes permet alors la mise en place d'une nouvelle souche hybride (Peacock *et al.*, 2016). Par ailleurs, comme les trypanosomes se déplacent et se développent dans tous les liquides vitaux, la contamination directe a été documentée.

1.2.4.2. Transmission directe

Les principales matières infectieuses sont le sang et le liquide céphalorachidien, mais tous les autres liquides physiologiques de l'animal peuvent également l'être : le sperme, le lait et les lochies. La transmission verticale, soit *in utero*, soit durant le part, a été démontrée. Des expériences sur des souris puis sur des bovins ont été réalisées (Biteau, 2016). Si les résultats

sur les modèles murins sont concluants, ceux sur les bovins sont plus difficilement observables. En effet, la plupart des bovins trypanosensibles infectés durant la gestation avortent. La transmission peut également être horizontale par contact direct de lésions ou de muqueuses entre différents individus. Néanmoins, cette transmission est moins courante et serait dépendante de l'espèce de trypanosome. Elle n'a été démontrée que pour *T. brucei* (Biteau, 2016). Pour ce dernier la transmission peut avoir lieu par voie orale entre la mère et le veau, lors de l'ingestion de sang, de lait ou d'autres liquides contaminants (Biteau, 2016).

1.2.5. Lutte antivectorielle

Les moyens de lutte contre la TAA ciblent les acteurs du cycle épidémiologique de la maladie. Les méthodes utilisées sont la lutte anti-vectorielle, la chimiothérapie et l'élevage d'animaux trypanotolérants (Tounkara, 2021). Néanmoins, la lutte anti-vectorielle reste la plus efficace jusqu'à nos jours pour assurer un contrôle efficace et durable. Elle permet de réduire la transmission des trypanosomes par la réduction de la densité des glossines. Cette stratégie prend tout son sens avec l'absence de vaccin et les difficultés liées aux autres méthodes de lutte contre la TAA. Certains auteurs considèrent la lutte anti-vectorielle comme la voie la plus durable pour l'élimination des trypanosomoses (Tounkara, 2021). La lutte antivectorielle regroupe plusieurs méthodes à la fois directes et indirectes. Les premières techniques utilisées ont été l'éclaircissement forestier et l'abattage d'hôtes nourriciers sauvages. Ces techniques ont connu du succès en leurs temps mais ont malgré tout, été abandonnés dans les années soixante-dix à cause des conséquences écologiques néfastes (Solano *et al.*, 2018). Les méthodes agissant directement sur les mouches, incluent principalement l'utilisation d'insecticides et la lutte biologique. Les insecticides sont utilisés de plusieurs manières. Employés en épandage, les insecticides à longue rémanence (DDT, dieldrine) étaient d'abord pulvérisés en solution aqueuse sur les lieux de repos des glossines. À cause de son coût élevé, de sa mise en place souvent pénible et de son impact néfaste sur l'environnement, cette technique a progressivement laissé place à l'épandage aérien d'insecticides non-résiduels (endosulfan). L'utilisation de cette technique est souvent suivie de l'emploi des pièges et écrans imprégnés de pyréthrinoïdes de synthèse. Ces méthodes sont plus acceptables sur le plan écotoxicologique. Toutefois, le coût de l'épandage aérien reste élevé et l'efficacité de pièges à glossines peut varier considérablement (Solano *et al.*, 2018). La dernière méthode impliquant les insecticides consiste en leur application sur le bétail. C'est la méthode la moins coûteuse mais elle ne fonctionne pas bien dans les zones fortement infestées. Enfin, lorsque la densité glossinienne est significativement réduite à la suite de l'emploi de méthodes précédemment

décrites dans des zones isolées et épargnées de réinvasion, la technique de l'insecte stérile est utilisée pour éradiquer les glossines « par lâché des mâles stériles ». C'est la méthode biologique la plus utilisée. Elle est basée sur le fait que les mouches femelles n'acceptent en principe qu'un seul accouplement.

1.2.6. Situation épidémiologique de la trypanosomose animale africaine en Côte d'Ivoire

La Côte d'Ivoire n'a pas une forte tradition pastorale et dépend de la région sahélo-soudanaïenne pour son approvisionnement en viande de bétail (Djakaridja *et al.*, 2014). Pour réduire cette dépendance, l'Etat ivoirien a mis en place une stratégie pour stimuler le développement de l'élevage. Cela s'est traduit par la création en 1970 de la Société de Développement des Productions Animales (SODEPRA), le financement de projets d'encadrement et de développement de l'élevage et la création d'infrastructures agro-pastorales notamment dans la région Nord du pays (Azokou *et al.*, 2016). Malgré tous ces efforts consentis, le déficit en viande demeure (Djakaridja *et al.*, 2014). Cette situation est créée par de nombreuses contraintes qui sont à la fois alimentaires, sociales et sanitaires, dont principalement la TAA. En Côte d'Ivoire, tout le territoire est infesté par les mouches tsé-tsé, vecteurs cycliques de la TAA et les *Tabanidae* et les Stomoxes, vecteurs mécaniques de la TAA ont été recensés dans le nord du pays (Acapovi-Yao *et al.*, 2017). En plus des bovins, d'autres animaux domestiques tels que les porcs, les ovins et les caprins sont exposés au risque trypanosomien (N'Djetchi *et al.*, 2017).

Les méthodes employées pour lutter contre la TAA reposent principalement sur le développement de bovins trypanotolérants, le traitement du bétail à l'aide de trypanocides et la lutte anti-vectorielle. Le bétail trypanotolérant (Baoulé, N'Dama et Lagunaire) a la capacité de tolérer la TAA, c'est-à-dire, de limiter l'anémie, la parasitémie et de rester productif en zone d'enzootie (Soffo, 2010). Il est adapté au milieu tropical humide et aux conditions de l'élevage extensif traditionnel et est retrouvé dans le Nord et le Centre de la Côte d'Ivoire. A l'inverse, les zébus meurent généralement de l'infection trypanosomienne en l'absence de traitement.

Le petit format des races bovines trypanotolérantes, est le prétexte utilisé par les éleveurs pour pratiquer des opérations de métissage intenses avec les Zébus, qui ont un grand format (Sokouri *et al.*, 2010). En effet, les élevages bovins de Côte d'Ivoire présentent des signes de métissage très importants de l'ordre de 86 % dans la région Nord et 40 % dans la région Centre (Sokouri *et al.*, 2009). Ainsi, les croisements intenses et incontrôlés effectués par les éleveurs ne permettent pas aux bovins locaux trypanotolérants d'exprimer véritablement leurs potentiels

génétiques, en situation d'élevage en races pures. Ces croisements peuvent favoriser l'introgession des gènes de sensibilité à la TAA dans le patrimoine génétique des races taurines locales. Par conséquent, ils font craindre la baisse de la trypanotolérance chez ces races. Le recours au traitement thérapeutique à l'aide des produits trypanocides est de plus en plus utilisé par les éleveurs (Yao *et al.*, 2020). Les trypanocides couramment utilisés en la matière, sont le chlorure d'isométymidium et l'acéturate de diminazène (Yao *et al.*, 2020). Malheureusement, leur administration au bétail de manière abusive, souvent par des personnes non qualifiées, favorise généralement le développement de souches résistantes chez les agents pathogènes (Azokou *et al.*, 2016). Pour lutter contre les glossines, le ministère de l'agriculture a mis en œuvre un programme de lutte antiglossinaire à long terme, en s'appuyant sur un financement extérieur et une assistance technique de la FAO pour promouvoir la lutte antiglossinaire à base communautaire et soutenir l'élevage (Azokou *et al.*, 2016). Malgré ces nombreux efforts de luttes, de récentes études ont mis en évidence la présence des glossines dans plusieurs régions de Côte d'Ivoire. En effet, Kaba *et al.*, (2021) ont révélé la présence de *G. palpalis* à Bonon dans le Centre-Ouest du pays. Djohan *et al.*, (2015) ont montrés que les espèces *G. p. gambiensis*, *G. tachinoides* et *G. medicorum* sévissaient dans le nord et ont signalés la présence de *G. Palpalis* à Aboisso dans le Sud. Acapovi-Yao *et al.*, (2013) ainsi que Allou *et al.*, (2015) ont également montrés la présence de *G. Palpalis* à Abidjan dans le sud du pays. Les travaux de Berté *et al.*, (2019) ont permis d'évaluer l'effet de la lutte antivectorielle sur la structure génétique de la population de *G. p. palpalis* dans le département de Bonon. Les résultats ont montré que bien que la lutte antivectorielle ait permis de réduire considérablement les densités de mouches tsé-tsé, elle a également provoqué l'émergence de mouches résistantes aux traitements chimiques. En outre, plusieurs travaux ont montré que la TAA sévit toujours en Côte d'Ivoire notamment dans le Centre-Ouest (N'Djetchi *et al.*, 2017), le Nord-Est (Koffi *et al.*, 2014 ; Kouadio *et al.*, 2014), et surtout dans le Nord de la Côte d'Ivoire (Acapovi-Yao *et al.*, 2013; Djakaridja *et al.*, 2014 ; Boka *et al.*, 2019) où l'élevage bovin est très présent. Cependant, aucun travail de recherche n'a couvert toute la Côte d'Ivoire d'où la nécessité de cette étude.

1.3. Concepts de base en génétique des populations

1.3.1. Terminologie de base

La génétique des populations est la science qui étudie la distribution des gènes dans une population et les changements de fréquences des allèles sous l'influence des pressions évolutives. Le génome d'un organisme vivant est constitué d'acide désoxyribonucléique (ADN)

qui est la molécule porteuse de l'hérédité. Cette molécule est composée d'acide phosphorique, de désoxyribose et de quatre bases azotées : l'adénine (A), la guanine (G), la thymine (T) et la cytosine (C). L'ADN est organisé en structures appelées chromosomes qui portent les gènes. Un gène est une petite section d'ADN qui correspond à un enchaînement précis et spécifique de ses bases (De Meeûs, 2021). Il contient l'information génétique nécessaire à la fabrication d'une protéine. La position particulière du gène sur un chromosome est appelé locus. Un même gène peut exister sous plusieurs formes différant les unes des autres par leurs séquences de bases. Elles correspondent à des allèles. Les gènes permettent de déterminer les caractères d'un individu (ex : groupe sanguin, couleur, taille). La composition allélique de tous les gènes d'un individu, constitue le génotype. Il peut être homozygote (même allèle sur les deux brins d'ADN) ou hétérozygote (forme allélique différente) pour un caractère donné (Allaer, 2017). Son expression conduit au phénotype qui est l'ensemble des caractères observables chez un individu, résultant de l'interaction entre son génotype et les effets de son environnement (Allaer, 2017).

1.3.2. Diversité génétique

1.3.2.1. Définition

La diversité génétique est l'étendue de la variabilité génétique mesurée entre individus dans une population et entre sous-population (Khadidja, 2018). Elle permet de s'intéresser à tous les processus populationnels en quantifiant l'influence qu'ils ont sur l'organisation des populations et donc de l'évolution des organismes vivants. La diversité génétique prend ses racines dans la théorie synthétique de l'évolution, une synthèse de la théorie de l'évolution de Darwin (basée sur la sélection naturelle) et de la théorie de l'hérédité de Mendel (Khadidja, 2018).

1.3.2.2. Utilisation de marqueurs génétiques pour l'analyse de la diversité génétique des populations

Plusieurs types de marqueurs sont utilisés pour évaluer la diversité génétique des populations. Ces marqueurs peuvent être de types morphologiques, biochimiques ou moléculaires. L'évaluation de la variation phénotypique se concentre sur les caractères morphologiques qui définissent la forme et l'apparence d'un ensemble d'individus. Certains de ces caractères peuvent être considérés comme "génétiques" si leur présence chez des individus apparentés est héritable et ne dépend pas de l'environnement, indiquant qu'ils sont associés à une séquence particulière d'ADN. L'évaluation de la variation génotypique se fait au niveau de la molécule d'ADN responsable de la transmission de l'information génétique. Initialement, les

marqueurs morphologiques étaient utilisés pour l'analyse de la diversité et sont toujours utilisés. Plus tard, les différences biochimiques apparaissant dans les génotypes d'une espèce ont commencé à être utilisées dans l'évaluation de la diversité génétique. Avec l'avènement des outils génomiques, les marqueurs génétiques sont devenus la méthode de choix pour l'évaluation de la diversité génétique. Par définition, le marqueur génétique est une portion de l'ADN de l'organisme étudié ou un sous-produit codé par cet ADN (De Meeûs, 2021).

Un bon marqueur génétique doit être :

- polymorphe : variabilité des séquences d'ADN ;
- codominant : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes, il peut être distingué de chacun des homozygotes parentaux ;
- neutre : les substitutions alléliques au locus marqueur n'ont pas d'autre effets phénotypiques (et donc éventuellement sélectifs) que ceux qui permettent de déterminer son génotype. Dans leur très grande majorité, les polymorphismes moléculaires sont neutres ;
- non épistatique : son génotype peut être connu à partir de son phénotype quel que soit le génotype aux autres loci. La codominance et la non épistasie peuvent être respectivement définis comme l'absence d'interaction intra et inter locus ;
- insensible au milieu : le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu.

En outre, il doit être facile d'accès (disponibilité), très reproductible et permettre un échange facile de données entre laboratoires.

Les marqueurs morphologiques répondent mal à ces critères. Peu polymorphes, en général dominants. Ils interfèrent souvent avec d'autres caractères et peuvent être influencés par le milieu. Même s'ils sont très nombreux chez certaines espèces, peu d'entre eux peuvent être conjointement polymorphes dans une descendance donnée (Belalia, 2019). En revanche les marqueurs biochimiques et moléculaires ont, pour la plupart, toutes ces qualités. Les limites majeures des marqueurs biochimiques sont le faible nombre de locus susceptibles d'être révélés, et le fait qu'il y ait une certaine spécificité d'organe : tous les enzymes ne sont pas présents ou actifs dans tous les organes (Govindaraj *et al.*, 2015). Quant aux marqueurs moléculaires, ils sont en nombre quasiment illimité, puisque l'ADN est le même dans tous les tissus. De plus, ils ont l'avantage d'être plus directement utilisables pour les applications ultérieures en biologie moléculaire.

1.3.2.3. Marqueurs moléculaires

Depuis leur apparition, les marqueurs moléculaires ont modifié de façon irréversible les disciplines de la génétique. Leur usage pour l'analyse de la diversité génétique ainsi que l'analyse des empreintes génétiques s'est avéré d'une grande utilité dans la gestion efficace des collections de matériel génétique. Différents types de marqueurs moléculaires permettant la détection de la variabilité génétique entre les populations et entre les individus sont actuellement disponibles (Khadidja, 2018). Parmi ces marqueurs, les plus utilisés sont :

- Amplification aléatoire d'ADN polymorphe/ Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD);
- Polymorphisme de longueur des fragments de restriction/ Restricted Fragment Length Polymorphism (RFLP);
- Polymorphisme de conformation des simples brins/Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP);
- Microsatellites (SSR) ;
- Polymorphisme nucléotidique/Single nucleotide polymorphism (SNP);
- séquences d'ADN (ADN mitochondrial, nucléaire, chloroplastique).

1.3.2.4. Choix des marqueurs microsatellites

Les microsatellites ou séquences simples répétées (SSR) sont des morceaux d'ADN répétés en tandem formés de mono, di, tri et tétranucléotides. Les microsatellites les plus courants sont $(A)_n$, $(TC)_n$, $(TAT)_n$ et $(GATA)_n$, les valeurs de n pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. Les microsatellites répondent à la définition typique d'un bon marqueur puisqu'ils sont codominants, multialléliques, en nombre illimité et remarquablement abondants dans les génomes des eucaryotes, transférables et très polymorphes (Govindaraj *et al.*, 2015). En raison de leur niveau élevé de polymorphisme, ils constituent un outil très puissant dans la détermination de la parenté et l'évaluation de la variabilité intra et inter-population. Ils sont considérés comme l'un des systèmes de marqueur les plus connus et sont largement utilisés dans les études de diversité génétique, de déséquilibre de liaison, des cartes génétiques et les techniques de sélection assistée par marqueurs. La reproductibilité, le polymorphisme élevé et le pouvoir discriminant des marqueurs SSR ont été mis en évidence par plusieurs études. Ils permettent par conséquent de mieux apprécier la diversité intra et inter-population d'une part, et un typage moléculaire précis, rapide et sans aucune ambiguïté d'autre part. Les SSRs présentent un haut degré de polymorphisme et une forte hétérozygotie qui fait d'eux les marqueurs de choix dans les études génétiques. Ils sont beaucoup plus polymorphes que les

polymorphismes de fragments de restriction (RFLP) et les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) (Chaoui, 2020). C'est la technique de PCR qui est utilisée pour révéler le polymorphisme des microsatellites. Grâce à un couple d'amorces (sens et anti-sens) complémentaire et flanquant la région cible, une séquence d'ADN peut être recopiée en plusieurs millions d'exemplaires par une polymérase. Les fragments d'amplification sont ensuite révélés par électrophorèse.

1.3.2.5. Apport des marqueurs génétiques dans la caractérisation des trypanosomes

Les progrès scientifiques réalisés au cours du XX^e siècle, et notamment l'avènement des approches moléculaires dans les années 1980, ont considérablement améliorés les études de caractérisation génétique des parasites. Ils ont offert aux chercheurs une « boîte à outils » performante pour l'étude du génome parasitaire, notamment à travers le développement des techniques d'amplification génique par PCR à l'aide de marqueurs génétiques. Les marqueurs génétiques ont largement été utilisés notamment pour les études de la diversité et la structure génétique de *Plasmodium falciparum* (Zhao *et al.*, 2019 ; Wilcox *et al.*, 2019) ; pour la caractérisation des différentes espèces de schistosomes chez l'homme (Weerakoon *et al.*, 2018 ; Alzaylae *et al.*, 2020). Pour la compréhension de la diversité génétique de *Toxoplasma gondii* (Galal *et al.*, 2018 ; Hamidović *et al.*, 2021). Les marqueurs microsatellites ont été largement utilisés pour la caractérisation moléculaire des trypanosomes (Kimenyi *et al.*, 2021), l'évaluation de la structure de la population et le mode de reproduction (Simo *et al.*, 2014 ; Echodu *et al.*, 2015 ; Gibson, 2015 ; Séré *et al.*, 2017). La sensibilité et la spécificité élevées de ces marqueurs ont permis de caractériser génétiquement *T. brucei* s.l. et de mieux comprendre certains aspects biologiques, génétiques et épidémiologiques de la THA (Simo *et al.*, 2014 ; Kaboré *et al.*, 2018). Les marqueurs microsatellites ont également permis de mettre en évidence l'importante diversité génétique au sein des sous-espèces de *T. congolense* (Simo *et al.*, 2013 ; Simo *et al.*, 2014 ; Fogue *et al.*, 2017 ; Nakamura *et al.*, 2021). C'est donc cet outil qui sera utilisé dans notre étude pour évaluer la structuration génétique de *Trypanosoma congolense* circulant chez les animaux domestiques en Côte d'Ivoire.

1.4. Phylogénie moléculaire

La phylogénie est la branche de la biologie qui étudie les relations évolutives entre les êtres vivants. Ces relations sont représentées à l'aide d'arbres phylogénétiques, construits à partir de données moléculaires ou morphologiques (Taguan, 2015). En effet, avant l'apport de

la biologie moléculaire, les arbres phylogénétiques étaient construits sur la base de caractères morphologiques, anatomiques et physiologiques. Dorénavant, grâce notamment aux techniques de séquençage de l'ADN, les arbres phylogénétiques sont construits à partir de séquences génétiques et protéiques. Ce type de données présente plusieurs avantages : les caractères moléculaires sont moins subjectifs et ambigus que les caractères morphologiques. Ensuite, ils permettent d'inférer les relations évolutives entre des organismes très éloignés. De plus, ces caractères évoluent généralement de manière plus régulière et homogène que les caractères morphologiques ou physiologiques. Enfin, les données moléculaires peuvent être facilement traitées de manière quantitative (Taguan, 2015).

1.4.1. Principes de reconstruction des phylogénies moléculaires

1.4.1.1. Alignement des séquences

Pour construire une phylogénie, il faut disposer de caractères comparables entre tous les objets (c'est-à-dire gènes ou espèces) que l'on veut analyser. En d'autres termes, les objets analysés doivent être « suffisamment similaires » pour être comparés. Si c'est le cas, on dit de ces caractères qu'ils sont homologues c'est-à-dire qu'on formule l'hypothèse selon laquelle la similitude observée est due au fait que les caractères sont issus d'un ancêtre commun et qu'ils se sont progressivement modifiés au fil des générations. Pour les séquences de protéines ou d'ADN, cette étape de comparaison est celle de l'alignement. Il existe aujourd'hui de nombreux algorithmes permettant d'aligner des séquences homologues. Parmi les algorithmes les plus utilisés, on pourra citer l'alignement multiple par les méthodes FASTA (Rubin, 2020), BLAST (Shah *et al.*, 2019), ClustalW (Gupta *et al.* 2021) et MUSCLE (Lassmann, 2020). Tout alignement généré par ces algorithmes doit être contrôlé minutieusement avant reconstruction phylogénétique. Les alignements ainsi vérifiés vont être à la base de toute analyse phylogénétique, puisqu'ils mettent en exergue les divergences accumulées entre les sites homologues des séquences au cours de leur histoire évolutive.

1.4.1.2. Méthodes d'inférences phylogénétiques

L'analyse en phylogénie moléculaire génère des arbres phylogénétiques représentatifs des liens unissant les taxons (ou organismes). Les feuilles de l'arbre sont représentées par les séquences connues et analysées des taxons, tandis que les nœuds intermédiaires figurent les ancêtres à l'origine de ces taxons et dont les séquences sont inconnues. C'est la raison pour laquelle, on parle d'inférence pour qualifier la manière de calculer un arbre phylogénétique car, il forme la conclusion d'interprétations faites par des modèles mathématiques à partir de

données réelles (Botero-Castro *et al.*, 2013). Les taxons se situant après un nœud intermédiaire dans l'arbre, taxon hypothétique dont ils sont les descendants, forment des clades. Enfin, un arbre peut être enraciné si l'ancêtre commun de toutes les séquences étudiées a pu être déterminé préalablement. Il existe plusieurs méthodes de reconstruction permettant d'inférer un arbre phylogénétique (Botero-Castro *et al.*, 2013). La première est basée sur l'observation simple de la distance entre des séquences prises deux à deux, établie en termes de différences en nucléotides ou en acides aminés. La méthode des distances est représentée par la méthode UPGMA ainsi que la méthode BioNJ. Ces méthodes construisent des arbres non enracinés en incrémentant les séquences en fonction de leur proximité avec les précédentes. Elles suivent un modèle évolutif explicite, c'est-à-dire basé sur l'observation des mécanismes évolutifs à l'œuvre. La seconde s'intéresse à l'état des caractères qui divergent à chaque site des séquences, c'est-à-dire qu'elle prend en compte la nature et la position des substitutions (transversion, transition). C'est le cas des méthodes de maximum de parcimonie, de maximum de vraisemblance et d'inférence bayésienne. Ces dernières peuvent être subdivisées en deux groupes : le maximum de vraisemblance et l'inférence bayésienne, qui construisent un arbre phylogénétique en suivant un modèle explicite d'évolution, tout en calculant la probabilité de l'organisation des branches de l'arbre, ainsi que de la longueur de ces branches. Ces méthodes génèrent des arbres enracinés puisque les modèles appliqués tiennent compte de la flèche du temps. Le maximum de parcimonie, quant à lui, ne suit pas de modèle explicite d'évolution, puisqu'il se borne à comptabiliser le nombre de « pas mutationnels » nécessaires pour passer d'une séquence à une autre au sein de l'arbre (Bonnin & Lombard, 2019).

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de l'ADN de trypanosome, de sang total de boeufs et de porcs. Ce matériel comprend également de l'ADN purifié de trypanosome ainsi que des souris NMRI (Naval Medical Research Institute) immunodéprimées utilisées pour l'isolement des trypanosomes.

2.1.2. Matériel technique

2.1.2.1. Matériel d'échantillonnage

Le matériel d'échantillonnage est composé de tubes sous vide contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), d'aiguilles de prélèvement sous vide et de portoirs pour le prélèvement sanguin. Une glacière contenant de la glace a permis de conserver les échantillons recueillis jusqu'au laboratoire de terrain où chaque échantillon a été aliquoté dans des tubes Eppendorf. Un congélateur à - 20°C a servi à la conservation des échantillons sur le terrain.

2.1.2.2. Matériel pour les analyses *in situ*

Le Kit commercial CATT (Card Agglutination Test for Trypanosomiasis) fourni par l'Institut de médecine tropicale d'Anvers en Belgique a été utilisé pour la détection de la signature antigénique des trypanosomes chez les animaux échantillonnés. Ce test a également nécessité l'utilisation d'agitateurs.

Le matériel qui a servi à la réalisation des tests parasitologiques buffy coat test (BCT) et mini-colonne échangeuse d'anion (mAECT) ainsi qu'à l'inoculation des souches de trypanosomes aux souris NMRI pour la culture des parasites est présenté ci-dessous :

Pour le BCT :

- tubes capillaires à hématocrite ;
- centrifugeuse pour tubes capillaires ;
- stylo diamant ;
- lame et lamelle ;
- microscope optique à fond noir.

Pour le mAECT :

- mini colonnes échangeuses d'anions ;
- tubes à fond coniques ;
- centrifugeuse à tube VENOJECT® ;

- chambre de lecture ;
- microscope optique à fond noir.

Pour l'inoculation aux souris :

- seringues ;
- marqueurs indélébiles.

2.1.2.3. Matériel de laboratoire

Le Kit Blood and Tissue (Qiagen) a été utilisé pour l'extraction de l'ADN total des échantillons de sang. Pour la réalisation des réactions de polymérisation en chaîne (PCR), le matériel utilisé est présenté ci-dessous:

- thermocycleur (BioRad, Singapour) pour l'amplification de l'ADN ;
- Une cuve à électrophorèse pour la migration de l'ADN ;
- Un trans-illuminateur pour la visualisation des fragments d'ADN amplifiés ;
- Des micro-pipettes pour la réalisation du mix réactionnel et pour le dépôt des produits PCR dans la cuve à électrophorèse.

2.2. Méthodes

2.2.1. Activités sur le terrain

2.2.1.1. Sensibilisation des populations

Avant l'activité d'enquête sur les animaux domestiques dans une localité, une équipe d'information et de sensibilisation y est envoyée. Cette équipe a pour rôle d'informer les autorités administratives (Sous-préfet, Directeurs Régional et Départemental de la santé humaine et vétérinaire etc..) et villageoises (chef du village, président des jeunes, responsables religieux etc...) de la venue prochaine d'une équipe de recherche chargée d'investiguer les trypanosomes chez les animaux domestiques dans leur zone. Ensuite, l'équipe chargée de la sensibilisation accompagnée d'un agent de santé communautaire (ASC), s'est rendu auprès des propriétaires d'animaux afin de leur relayer l'information et le programme de passage de l'équipe de prospection tout en leur expliquant l'objectif et la nécessité de ce travail. Après le passage de l'équipe de sensibilisation, l'information est encore relayée par les infirmiers et les ASC présents dans la zone et influents au niveau des villages jusqu'à la venue de l'équipe de prospection.

2.2.1.2. Considérations éthiques

Le prélèvement des échantillons de sang a été effectué par un vétérinaire du Laboratoire National d'Appui au Développement Rural (Ministère de l'Agriculture). Il a été réalisé dans le cadre des activités de surveillance épidémiologique supervisées par le Programme National d'Elimination de la THA. Les prélèvements sanguins sur les animaux domestiques ont été faits avec l'autorisation du propriétaire. L'étude a été réalisée dans le cadre d'une campagne de diagnostic et de prophylaxie. Aucun échantillon n'a été prélevé, à l'exception de ceux destinés au dépistage de routine et aux procédures de diagnostic.

2.2.1.3. Collecte d'échantillons

Le choix des sites d'échantillonnage a été fait en tenant compte des données d'archive du PNLTHA et du PRCT dans le cadre de l'élimination de la THA. A partir de ces données, une liste des anciens malades a été établie et la cartographie de leur provenance a été produite. Les animaux domestiques (bovins et porcs) ont été choisis de façon aléatoire dans chaque village retenu en fonction de leur disponibilité. Pour chaque animal, 9 mL de sang ont été prélevés à la veine jugulaire par un agent vétérinaire à l'aide d'une aiguille stérile dans un tube contenant de l'EDTA (Acide éthylène-diamine-tétra acétique) (Figure 8). Les tubes ont ensuite été conservés dans de la glace avant les tests de diagnostics parasitologiques : buffy coat test (BCT) et mini colonne échangeuse d'anion (mAECT). Les animaux domestiques dont le sang a été prélevé ont été identifiés par un code permettant de retrouver le site d'échantillonnage de l'animal et le propriétaire. Ce code comprend : la première lettre de la localité (exemple : G pour Guiglo) suivie du chiffre correspondant au rang du site d'échantillonnage (E1 pour Elevage 1) ; puis de la première lettre de l'espèce animale (exemple : B pour Bovin) et le numéro d'ordre de l'animal (1, 2 etc.) ; et enfin le chiffre correspondant au rang du propriétaire (P1 pour le premier propriétaire).

Exemple de codification : animal codifié GE3B1P1 signifie : G=localité de Guiglo ; E3= troisième site visité ; B1= Bovin n°1 ; P1= Propriétaire 1.

Le code est marqué sur les tubes contenant les différents échantillons sanguins. A la fin de chaque prélèvement, un questionnaire épidémiologique et clinique a été soumis aux éleveurs pour obtenir des informations sur leur situation socio-sanitaire en rapport avec leur pratique de l'élevage, et l'état sanitaire de l'animal (Annexe I). Des aliquots de 1 mL de sang, de plasma et de buffy-coat ont été réalisés à partir du prélèvement et conservés immédiatement à -20 °C dans un congélateur puis transportés au laboratoire pour être conservés également à -20 °C. Ces aliquots ont servi à la réalisation du diagnostic des trypanosomes par la technique PCR.



a) Prélèvement de sang chez le porc



b) Prélèvement de de sang chez le boeuf

Figure 8 : Prélèvement de sang chez le porc (a) et chez le bœuf (b)

2.2.1.4. Diagnostic sérologique

Le test CATT est le test sérologique utilisé dans cette étude. Il permet de détecter les anticorps dirigés contre les antigènes variants de surface (VAT) bien définis (glycoprotéines de

surface). Une goutte de solution tampon contenant des antigènes spécifiques des trypanosomes est ajoutée à chaque échantillon de sang sur une plaque. Celle-ci est agitée à l'aide d'un agitateur pendant 5 mn et des agrégats visibles à l'œil nu se forment si le sang analysé contient les anticorps spécifiques des antigènes parasitaires (Figure 9 et 10). Afin d'augmenter la spécificité du test, un test CATT sur dilutions successives de plasma (CATT/pl) a été effectué pour tous les individus positifs au CATT sur sang total (CATT/sg). Le seuil de dilution retenue pour dire qu'un CATT/pl est positif, a été pris à $\text{CATT/pl} \geq 1/4$.

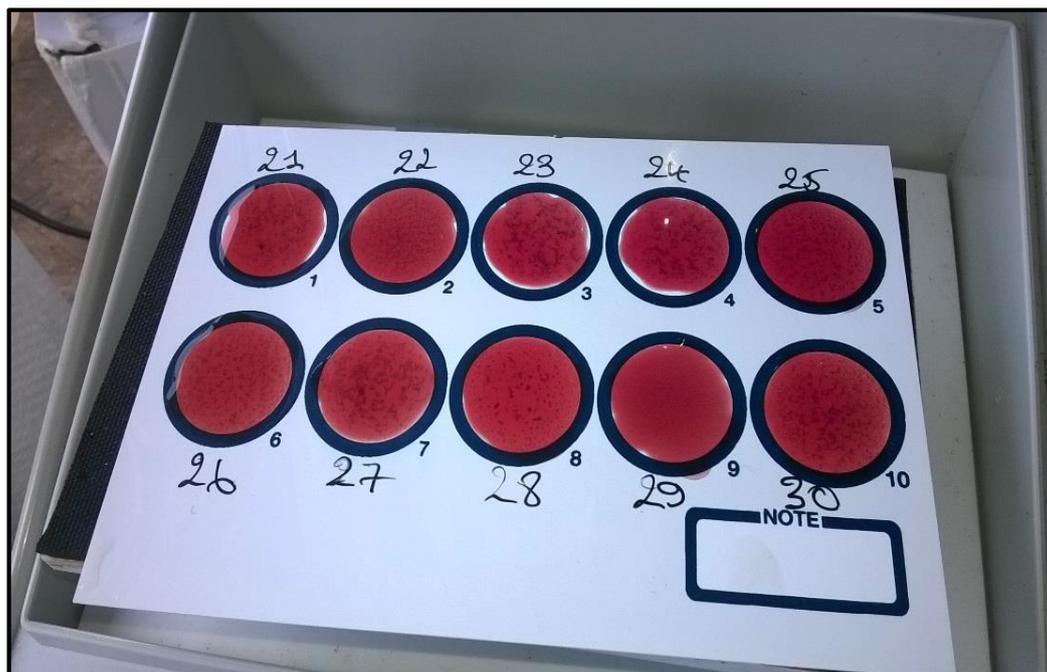


Figure 9 : Test CATT sur sang total

La figure 9 représente les résultats du test CATT sur sang total pour 10 échantillons de sang. Il est positif pour tous les cercles présentant des agglutinations sauf le cercle 29.

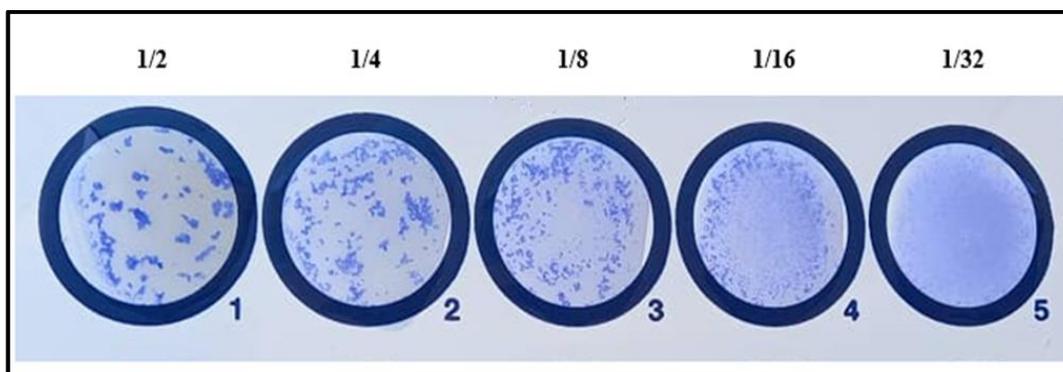


Figure 10 : Test CATT sur plasma

La figure 10 représente les résultats d'un test CATT sur plasma pour un échantillon de plasma sanguin préalablement positif au test CATT sur sang total aux dilutions successives suivantes :

1 = dilution 1/2 ; 2 = dilution 1/4 ; 3 = 1/8 ; 4 = 1/16 et 5 = 1/32.

2.2.1.5. Diagnostic parasitologique

2.2.1.5.1. Technique du buffy-coat

Cette technique permet de mettre en évidence la présence du parasite dans les liquides biologiques. C'est un examen direct permettant d'observer au microscope les trypanosomes vivants et mobiles. Le test a été réalisé à l'état frais sur chaque échantillon de sang prélevé. Pour chaque animal, un tube capillaire a été rempli d'un volume de sang d'environ 70 μ L. Le tube capillaire a été ensuite bouché à l'une de ses extrémités avec de la pâte à modeler puis centrifugé pendant 5 min à 13000 t/pm (Murray *et al.*, 1977). Après la centrifugation, la préparation présente 3 couches : une couche de liquide clair en surface (le plasma), une couche de liquide rouge au fond du tube, contenant la plupart des globules rouges. La couche leucocytaire ou buffy-coat se trouvant entre le liquide clair et le liquide rouge (Figure 11). Du fait de leur densité, les trypanosomes se trouvent essentiellement dans le buffy-coat tout proche des globules blancs et parfois, parmi les globules rouges. Ils sont donc dans une frange très étroite qui a été recueillie sur une lame. Pour cela, le tube a été coupé à l'aide d'un stylo-diamant et le contenu observé sous un microscope après avoir été recouvert d'une lamelle au grossissement $G \times 400$. Le test est positif lorsque des trypanosomes mobiles sont observés.

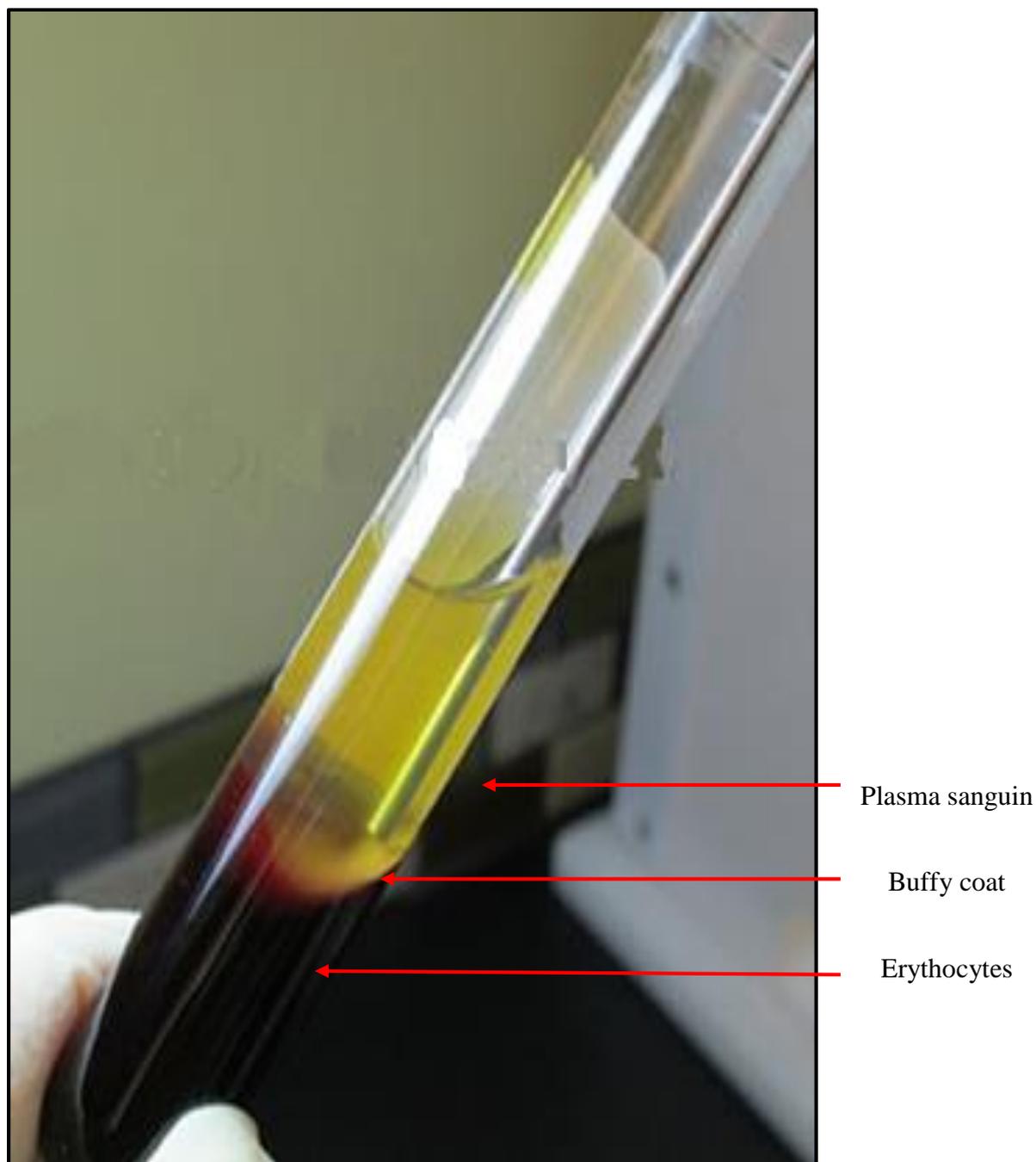


Figure 11 : Tube vacuitaner contenant les différentes phases du produit de centrifugation du sang total.

2.2.1.5.2. Technique de la mini-colonne échangeuse d’anion

La technique de la mAECT est une technique de séparation des trypanosomes des éléments figurés du sang par filtration à travers une colonne de DEAE-cellulose. Le DEAE-cellulose (Diéthylaminoéthylcellulose) est un échangeur d'anions qui retient les éléments figurés du sang chargés négativement, et laisse passer les trypanosomes à faible charge négative (Figure 12). L'éluât contenant les trypanosomes est ensuite centrifugé et le culot examiné. Les

tubes collecteurs sont centrifugés à 30000 t/min pendant 10 min puis observé au microscope au grossissement $G \times 100$ (Lumsden *et al.*, 1977). Le test est positif lorsque des trypanosomes mobiles sont observés.



Figure 12 : Elution des trypanosomes par chromatographie sur mini colonne de DEAE-cellulose

2.2.2. Activités au laboratoire

2.2.2.1. Isolement des souches de trypanosomes

L'isolement des trypanosomes à partir du sang total de l'hôte naturellement infecté est généralement impossible à cause de la faible parasitémie observée. L'on a alors recours à la culture des trypanosomes sur des rongeurs, notamment des souris NMRI. Pour ce faire, 500 μ L de sang de chaque animal infecté ont été injectés à des souris immunodéprimées (injection intradermique de 0,2 mL de cyclophosphamide (nom commercial : Endoxan®, 200mg/mL))

(Figure 13). Deux souris ont été inoculées par échantillon de sang positif. Les souris infectées reçoivent un code d'identification et sont amenées au laboratoire pour un suivi de la parasitémie. Ce suivi a été effectué tous les 2 à 3 jours par observation microscopique (grossissement G X 400) d'une goutte de sang prélevée à la queue, jusqu'à ce que la charge parasitaire atteigne un antilog de 8.1 soit 125.10^6 parasites/mL de sang. La souris est ensuite euthanasiée par injection de 0,2 mL de kétamine et le sang récolté par ponction cardiaque dans une seringue stérile. Une partie du sang obtenu est mélangé avec un cryoconservateur (10 % de glycérol et du phosphate saline glucose (PSG)). Le mélange ainsi constitué (le stabilat) a été cryoconservé à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans l'azote liquide au laboratoire de l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire (URGEM) de l'UJLoG pour des études ultérieures. Le reste du sang a été filtré par la technique du mAECT dans le but de récolter les trypanosomes. Les éluats obtenus ont été alors congelés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour en extraire l'ADN.



a) Souris NMRI saines

b) Infection d'une Souris NMRI

Figure 13 : Inoculation de sang infecté de bovins et porcins à une souris NMRI saine

2.2.2.2. Extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN à partir des échantillons de sang collectés sur le terrain a été effectuée avec le kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Valencia, CA, USA) dont le protocole est donné en annexe II. Ce procédé peut être résumé en quatre principales étapes que sont :

- la lyse des cellules pour en libérer les acides nucléiques,
- la fixation de l'ADN sur une membrane de gel en silice,
- l'élimination des contaminants de l'ADN par lavage de la membrane,
- l'élution de l'ADN.

2.2.2.3. Contrôle de la qualité de l'ADN

Les extraits d'ADN obtenus ont été migrés sur un gel d'agarose 1% pendant 20 minutes à 100 volts. Le gel est ensuite visualisé grâce à un transilluminateur puis photographié. Cette étape a permis de vérifier la qualité de l'ADN extrait. Les extraits d'ADN sont ensuite conservés à -20 °C au congélateur pour les analyses ultérieures.

L'extraction de l'ADN parasitaire des trypanosomes à partir des souches isolées s'est faite selon ce même procédé à l'exception de la première étape qui a consisté à suspendre le culot de parasite par ajout de 200 µL de PBS. La concentration des échantillons d'ADN des trypanosomes a été mesurée au Nanodrop ND 1000 (Thermo Scientific). Ensuite, des aliquots à 10 ng/µL ont été réalisés pour la détermination des génotypes et le reste de l'ADN extrait a été stocké à -80 °C au congélateur.

2.2.2.4. Diagnostic moléculaire des trypanosomes

Le diagnostic moléculaire des trypanosomes a été réalisé au laboratoire de l'URGEM de l'UJLoG. Ce diagnostic est basé sur la mise en évidence de séquences de nucléotides spécifiques d'une espèce ou d'une souche de trypanosome. Ce diagnostic a été effectué sur tous les échantillons biologiques ainsi que les souches isolées de trypanosomes.

2.2.2.4.1. Amplification par la méthode de réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR est utilisée dans le but d'amplifier *in vitro* une région spécifique d'un acide nucléique donné à l'aide d'un couple d'amorce afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier. Le programme d'amplification de l'ADN dépend de la température d'hybridation des couples d'amorces spécifiques à chaque espèce de trypanosomes recherchés. Dans la présente étude, les couples d'amorces utilisés ont été TVW1/TVW2, TCS1/TCS2, TCF1/TCF2 et TBR1/TBR2, TCF1/TCF2 (Tableau I). Les PCR sont constituées de plusieurs cycles thermiques permettant la réplique d'une matrice d'ADN double brin.

Tableau I : Amorces diagnostiques utilisées pour l'amplification de l'ADN des trypanosomes

Spécificité	Séquence des amorces (5'→3')	Tm	Taille	Références
TBR	TBR1: CGA-ATG-AAT-ATT-AAA-CAA-TGC-GCA-G	55°C	177 pb	Moser <i>et al.</i> , 1989
	TBR2: AGA-ACC-ATT-TAT-TAG-CTT-TGT-TGC			
TCS	TCS1: CGA-GCG-AGA-ACG-GGC-AC	60°C	321 pb	Masiga <i>et al.</i> , 1992
	TCS2: GGG-ACA-AAC-AAA-TCC-CGC			
TCF	TCF1: GGA-CAC-GCC-AGA-AGG-TAC-TT	60°C	350 pb	Masiga <i>et al.</i> , 1992
	TCF2: GTT-CTC-GCA-CCA-AAT-CCA-AC			
TVW	TVW1: CTG-AGT-GCT-CCA-TGT-GCC-AC	55°C	150 pb	Masiga <i>et al.</i> , 1992
	TVW2 : CCA-CCA-GAA-CAC-CAA-CCT-GA			

1 : sens, 2 : anti sens, pb : paires de bases,, Tm : melting Temperature (Température d'hybridation), Taille : Taille attendue, TCS : *Trypanosoma congolense* savane, TCF : *T. congolense* forêt, TBR : *T. brucei*, TVW : *T. vivax*

2.2.2.4.1.1. Mélange réactionnel

Le mix réactionnel est composé de différents réactifs auxquels est ajouté l'ADN de l'échantillon à tester. Ce mélange comprend 5 µL de solution tampon 10X, 36,9 µL d'eau distillée, 0,1 µL de Taq-polymérase 5 unités/µL, 1 µL de chaque amorce spécifique et 1 µL de dNTP 10 mM. Ce mélange réactionnel est préparé dans un volume final de 50 µL y compris 5 µL de solution d'ADN. Deux (2) tubes témoins sont préparés ; un témoin négatif dans lequel l'ADN est remplacé par de l'eau stérile (5 µL) et un témoin positif contenant un ADN de référence.

2.2.2.4.1.2. Programme du cycle thermique d'amplification

Les tubes contenant le mélange réactionnel sont soumis à des cycles de différentes températures répétés plusieurs dizaines de fois dans le bloc chauffant du thermocycleur, selon les étapes suivantes : dénaturation à 95 ° C pendant 3 min, suivie de 40 cycles dont la dénaturation à 95° C de 30 secondes, l'hybridation à 55 °C pour *T. brucei* et *T. vivax*, et 60 °C pour *T. congolense* pendant 30 secondes, l' élongation à 72 °C pendant 1 min, puis l'élongation finale de 5 min à 72 °C (Annexe III).

2.2.2.4.1.3. Electrophorèse et visualisation des produits d'amplification

L'électrophorèse en champ pulsé est une technique de séparation des fragments d'ADN en fonction de leur taille sous l'action d'une tension électrique. Pour ce faire, les produits PCR obtenus à la suite de l'amplification avec les amorces spécifiques ont été migrés sur un gel d'agarose (2 g d'agarose dans 100 mL d'une solution de Tris Borate EDTA (TBE) 0,5 X). L'agarose est dissolue à l'aide d'une plaque chauffante jusqu'à ébullition puis refroidie. Lorsqu'il n'y a plus de vapeur sur la solution d'agarose, 3 µL de GelRed (agent intercalant entre les bases de l'ADN) sont ajoutés au gel d'agarose. Le GelRed se fixe sur les fragments d'ADN et permet de les visualiser par fluorescence sous exposition aux rayons ultraviolets d'un transilluminateur. Le mélange obtenu est coulé dans un moule à gel contenant un peigne à puits de 16 dents. Après solidification, le peigne est retiré et le gel est placé dans la cuve à électrophorèse contenant un tampon de migration TBE de 0,5 X. Les produits d'amplification sont mélangés avec un tampon de charge (loading buffer) puis déposés dans les puits à l'aide d'une micropipette. La migration par électrophorèse, se fait à 100 V pendant 30 minutes. La visualisation des produits d'amplification sur gel d'agarose s'est faite grâce à un transilluminateur à la lumière UV de longueur d'onde d'environ 300 nm.

L'interprétation des résultats est rendue possible par le marqueur de poids moléculaire déposé dans un puit à l'extrémité du gel. Les tailles des produits d'amplifications avec les amorces des

principaux trypanosomes pathogènes du bétail sont au préalable connues. En effet, le marqueur de poids moléculaire de 100 paire de base (pb) permet non seulement de connaître et ou de confirmer la taille des bandes génomiques, mais aussi d'identifier les témoins positifs. Le résultat positif d'un échantillon donné se traduit par l'apparition d'une bande au même niveau que le témoin positif.

2.2.2.5. Génotypage des souches de *Trypanosoma congolense* à l'aide des marqueurs microsatellites

2.2.2.5.1. Amplification des gènes par PCR

La PCR diagnostic effectuée sur les souches isolées, a permis d'identifier les échantillons porteurs de l'ADN de *T. congolense*. Ces échantillons ont été sélectionnés, puis soumis au génotypage à l'aide de cinq marqueurs microsatellites. Ces marqueurs, choisis sur la base de leur polymorphisme ont été définis lors d'études antérieures pour différencier les sous-espèces de *T. congolense* (Morrison *et al.*, 2009). Il s'agit des marqueurs microsatellites TCM2, TCM3, TCM4, TCM6, TCM7 (Tableau II).

L'amplification de l'ADN parasitaire a été réalisée dans un volume final de 25 µL contenant : 2,5 µL de solution tampon 10X, 16,9 µL d'eau distillée, 0,1 µL de Taq-polymérase 5 unités/µL, 1 µL de chaque amorce spécifique et 1 µL de dNTP 10 mM. 2,5 µL d'extrait d'ADN à amplifier ont été ajoutés à ce mélange pour être portés au thermocycleur. Le programme d'amplification est le suivant : une dénaturation initiale de 5 min à 95 °C suivie de 30 cycles composés d'une dénaturation à 95 °C pendant 50 sec, hybridation à 50 °C pendant 50 sec et une élongation à 72 °C pendant 1 min, suivie d'une élongation finale à 72 °C pendant 10 min.

Tableau II: Séquences oligonucléotidique conçues pour l'amplification des microsatellites sélectionnés pour *T. congolense*

Nom de l'amorce	Séquence de l'amorce (5'-3')	Tm	Références
TCM2 1	GGTAAGACAAAGTTGTGGGTG	50°C	Morrison <i>et al.</i> , 2009
TCM2 2	ATGTGACCGATGCTCCGAAC		
TCM3 1	TCTATTGTTACGTCTCGTG	50°C	Morrison <i>et al.</i> , 2009
TCM3 2	ACTCATTGCATAAAGGCTAG		
TCM4 1	CTTAACGCTGCTTCAGTAGC	50°C	Morrison <i>et al.</i> , 2009
TCM4 2	AGTACACACGACTTCACCTCC		
TCM6 1	GAATGCGAGACCTGCTTCTTGG	50°C	Morrison <i>et al.</i> , 2009
TCM6 2	CATTTAGACTCTCACTTTCCG		
TCM7 1	GTGTAGTTTGTATACTTCG	50°C	Morrison <i>et al.</i> , 2009
TCM7 2	GTAAATACTTGTGAGAGCCAGC		

1 : amorce sens, 2 : amorce anti-sens, Tm : melting Temperature (Température d'hybridation)

2.2.2.5.2. Séquençage des gènes amplifiés

Les amplicons ont été séquencés à l'aide de séquenceur automatique par la société BGI TECH SOLUTIONS (HONG-KONG) dans l'automate ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems) selon la méthode décrite par Sanger *et al.* (1977). Cette technique repose sur l'incorporation aléatoire par une ADN polymérase de didésoxynucléotides (ddNTP), interrupteurs de chaîne. A la différence des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), les ddNTP sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle (-OH) à l'extrémité 3' du ribose. Cette configuration des ddNTP empêche la formation de la liaison phosphodiester entre le ddNTP incorporé dans la chaîne et le nucléotide en cours de synthèse, d'où un arrêt de l'allongement de la chaîne par l'ADN polymérase. En plus des quatre (4) dNTP (dCTP, dATP, dGTP, dTTP), des ddNTP (ddATP, ddGTP, ddCTP et ddTTP) sont présents dans le milieu réactionnel. La réaction de séquençage terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par électrophorèse capillaire. Dans cette méthode automatisée, chaque ddNTP est marqué par un fluorochrome différent dont le spectre d'émission est spécifique. Une analyse spectrale permet de différencier les fluorochromes, d'associer la base correspondante et donc de définir la séquence nucléotidique du brin d'ADN séquencé.

2.2.3. Analyse des données

2.2.3.1. Distribution géographique des trypanosomoses animales

2.2.3.1.1. Calcul des prévalences

La prévalence est la proportion (exprimée en pourcentage) d'individus positifs à une infection dans une population donnée. Dans cette étude, les infections aux trypanosomes ont été détectées à l'aide d'outils sérologiques (CATT), parasitologiques (BCT et/ou mAECT) et moléculaires (PCR). Les prévalences de ces infections ont été comparées entre les espèces animales domestiques et les sites de l'étude. La prévalence est déterminée par la relation suivante :

$$\text{Prévalence (\%)} = \frac{n}{N} \times 100 \quad (1)$$

n : effectif d'individus positifs à l'infection aux trypanosomes ;

N: effectif total d'individus examinés de la population considérée.

2.2.3.1.2. Calcul de la sensibilité et la spécificité des tests sérologiques et parasitologiques comparés au gold standard de la PCR

- Sensibilité

La validité intrinsèque d'un test est la capacité informative du test, c'est-à-dire, la capacité du test à catégoriser les individus testés. Elle s'exprime en termes de probabilité et par un pourcentage sur un échantillon. La sensibilité (Se) est déterminée sur une population dont le statut « infecté » est connu grâce au test de référence appelé gold standard. Dans le présent cas, il s'agit de la PCR. C'est la probabilité du résultat positif du test chez les sujets infectés, telle qu'elle est définie par le gold standard appelée également taux de vrais positifs (Collange, 2013).

$$\text{Se} = \frac{\text{VP}}{(\text{VP} + \text{FN})} \quad (2)$$

VP ou vrai positifs = c'est-à-dire les individus infectés présentant un test positif ;

FN ou faux négatifs = correspondant aux individus présentant un test négatif alors qu'ils sont infectés

- Spécificité

La spécificité (Sp) est déterminée sur une population dont le statut non infecté est connu. C'est la probabilité du résultat négatif de test chez les individus définis comme non infectés appelée également taux de vrais négatifs (Collange, 2013).

$$Sp = \frac{VN}{(VN+FP)} \quad (3)$$

VN ou vrais négatifs = les individus non infectés présentant un test négatif ;

FP ou faux positifs = correspondant aux individus présentant un test positif alors qu'ils ne sont pas infectés

On calcule également d'autres paramètres tels que la valeur prédictive positive du test (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) (Collange, 2013).

La VPP est la proportion des tests positifs qui correspond à de vrais individus infectés. C'est le rapport du nombre de VP sur le nombre total de tests positifs.

$$VPP = \frac{VP}{(VP+FP)} \quad (4)$$

La VPN est la proportion des tests négatifs qui correspond à des non-infectés. C'est le rapport du nombre de VN sur le nombre total de tests négatifs

$$VPN = \frac{VN}{(VN+FN)} \quad (5)$$

2.2.3.2. Génétique des populations

2.2.3.2.1. Traitement des données de séquences d'ADN

Les données fournies par le séquençage sont un ensemble de séquences nucléotidiques représentées par quatre lettres de l'alphabet A, C, G et T. Ces lettres représentant les initiales des bases azotées Adénine, Cytosine, Guanine et Thymine, respectivement. Ces séquences fournies en fichiers de format ABI ont été nettoyées à l'aide du logiciel Chromas Lite® 2.01 pour les rendre analysables. Les séquences forward et reverse des gènes ont été assemblées puis corrigées à l'aide du logiciel DNA Baser Assembler 5.15.0 et du logiciel Chromas Lite® 2.01 pour déterminer la taille des séquences.

2.2.3.2.2. Diversité et structuration génétique des populations de *T. congolense*

2.2.3.2.2.1. Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites

La proportion de loci polymorphes, encore appelée taux de polymorphisme ou plus simplement polymorphisme (P), rend compte de la proportion de loci polymorphe par rapport à l'ensemble des loci étudiés. Un marqueur sera dit polymorphe pour un locus donné, si la fréquence de l'allèle le plus fréquent est inférieure à 0,95. Les loci dont le polymorphisme

repose uniquement sur des variants très rares ne sont pas considérés comme des loci polymorphes.

$$P (\%) = \frac{n}{L} \times 100 \quad (6)$$

P = taux de polymorphisme

n = nombre de loci polymorphes

L = nombre de loci étudiés.

2.2.3.2.2.2. Nombre moyen d'allèles par locus

Le nombre moyen d'allèles par locus (A), appelé également taux d'allélisme ou richesse allélique, est défini par le nombre total d'allèles présent, dans la population divisée par le nombre de loci étudiés. Il est exprimé selon la formule suivante :

$$A = \frac{\sum n}{L} \quad (7)$$

n = nombre d'allèles

L = nombre de loci étudiés.

2.2.3.2.2.3. Fréquences alléliques

La fréquence allélique quantifie la probabilité de rencontrer un allèle donné dans une population, et ne peut être déterminée que dans le cas d'allèles co-dominants. Ainsi, la fréquence d'un allèle dans un échantillon est égale à deux fois le nombre de génotypes homozygotes pour cet allèle (chaque homozygote porte deux copies de l'allèle), plus le nombre des génotypes hétérozygotes comportant cet allèle (chaque hétérozygote porte une copie), divisé par deux fois le nombre total d'individus dans l'échantillon (car chaque individu porte deux allèles à ce locus). La formule pour calculer la fréquence f (A), de l'allèle A au locus k est la suivante :

$$f_{Ak} = \frac{2(n_{AA}) + n_{Aa}}{2N} \quad (8)$$

n_{AA} est le nombre d'individus homozygotes pour l'allèle A au locus k,

n_{Aa} est le nombre d'individus hétérozygotes pour l'allèle A au locus k,

N est le nombre total d'individus typés au locus k.

2.2.3.2.2.4. Taux d'hétérozygotie

L'évaluation de la variabilité génétique au sein d'une population s'effectue généralement en référence à la proportion d'hétérozygotes au niveau d'un ou plusieurs locus. La manière la plus simple est de compter le nombre d'individus effectivement hétérozygotes, ce qui permet de calculer un taux d'hétérozygotie observée (H_o). Cependant, cette proportion dépend aussi de la manière dont les couples de reproducteurs sont constitués. Ainsi, le paramètre plus généralement employé pour apprécier la variabilité intra population est le taux d'hétérozygotie attendue (H_e) mis au point par Nei (1987), selon l'hypothèse de panmixie et compte tenu des fréquences alléliques observées. Dans une population de très grande taille, pour un locus k ayant n allèles, l'allèle A ayant une fréquence P_A , le taux d'hétérozygotie attendue H_e se calcule comme suit :

$$H_e = 1 - \sum^n P_{Ak}^2 \quad (9)$$

P_A : fréquence allélique au locus considéré ; n : nombre d'allèle au locus k

2.2.3.2.2.5. Contenu en polymorphisme informatif

Le contenu en polymorphisme informatif (PIC) permet d'évaluer, de façon discriminante, la capacité d'information d'un locus dans la population globale (Thiruvankadan et al., 2014). C'est le nombre moyen de marqueurs polymorphes par locus, il varie de 0 (monomorphe) à 1 (polymorphe et très discriminant avec de nombreux allèles à des fréquences égales). La valeur moyenne du PIC met en évidence les loci les plus polymorphes sur l'ensemble des individus étudiés. Il est estimé pour chaque marqueur selon la formule ci-dessous

$$H_e = 1 - \sum^k P_A^2 \quad (10)$$

k : le nombre total de loci

P_A : la fréquence allélique pour tous les génotypes obtenus

2.2.3.2.3. Structure génétique des populations

2.2.3.2.3.1. Equilibre d'Hardy-Weinberg

Le modèle proposé indépendamment par Hardy et Weinberg en 1908 est une pierre angulaire dans la majorité des études en génétique des populations. Ce modèle permet de prédire l'évolution des fréquences alléliques et génotypiques au fil des générations pour les populations dites en équilibre de Hardy-Weinberg. Une population diploïde est dite en équilibre de Hardy-Weinberg si elle respecte les conditions suivantes : la reproduction est sexuée et panmictique ; les générations ne sont pas chevauchantes ; la taille de la population est très

grande ; et l'influence des forces évolutives (migrations, mutations et sélection) est négligeable. Dans une telle population, les fréquences alléliques et génotypiques restent constantes d'une génération à une autre (De Meeûs, 2021). Bien entendu, aucune population ne respecte parfaitement ce modèle. En réalité, ce modèle fournit une population de référence à laquelle est comparée la population étudiée. Les écarts par rapport à ce modèle nous renseignent sur le mode de reproduction, la taille de la population et l'influence des différentes forces évolutives sur les structures et l'évolution des populations. Ces écarts sont évalués grâce au test d'équilibre de Hardy-Weinberg qui mesure la différence existante entre les fréquences génotypiques observés et ceux théoriques qui seraient obtenues si la population suit le modèle de Hardy-Weinberg. La significativité de cette différence est par la suite déterminée par un test de Chi2 au seuil de 5%.

2.2.3.2.3.2. Coefficient de consanguinité F_{IS}

Le paramètre F_{IS} de Wright mesure la réduction éventuelle de l'hétérozygotie des individus à l'intérieur d'une population (Svensson & Connallon 2019). Il est calculé selon la formule :

$$F_{IS} = \frac{(H_e - H_o)}{H_e} = 1 - \frac{H_o}{H_e} \quad (11)$$

H_o = l'hétérozygotie observée

H_e = l'hétérozygotie attendue

Cet indice est calculé à partir des fréquences alléliques dans l'hypothèse de Hardy-Weinberg. Il reflète la différenciation des individus à l'intérieur des populations.

$F_{IS} > 0$: déficit d'individus hétérozygotes,

$F_{IS} = 0$: population en équilibre de Hardy-Weinberg,

$F_{IS} < 0$: hétérozygotie excédentaire

2.2.3.2.3.3. Déséquilibre de liaison

On définit le déséquilibre de liaison comme une association non aléatoire entre les différents allèles de deux loci. Plus deux loci sont proches l'un de l'autre, moins leurs allèles ont de chance d'être transmis de façon indépendante. Alors, on dit d'eux qu'ils sont en déséquilibre de liaison. En effet, de façon idéale lorsque deux loci à deux allèles chacun (allèles A et a au premier locus et allèles B et b au deuxième locus) sont en équilibre de liaison, alors le gamète AB survient en probabilité avec une fréquence $P_{AB} = P_A P_B$ dans la population, P_A et P_B étant les fréquences alléliques de A et de B respectivement dans la population. Dans le cas contraire $P_{AB} = P_A P_B \pm D$, où D est le déséquilibre de liaison entre les deux loci. Un déséquilibre de liaison significatif suggère soit une liaison physique entre les deux loci (s'ils sont très proches,

par exemple), soit un système de reproduction non panmictique (absence ou manque de recombinaison).

Tous les paramètres de mesure de la diversité génétique décrits ont été déterminés à l'aide du logiciel F-STAT version 2.9

Le test d'indépendance et le test de conformité de Chi-deux ainsi que le test exact de Fisher ont été effectués pour comparer les distributions observées entre les animaux domestiques examinés. Les valeurs des probabilités (p) < 0,05 ont été considérées comme significatives. Le test a été réalisé à l'aide du logiciel R (R-Core-Team, 2018).

2.2.3.3. Association entre la distribution géographique de *T. congolense* et ses paramètres génétiques

2.2.3.3.1. Analyse cladistique

Une classification sous forme d'un dendrogramme a été effectuée afin d'établir les liens génétiques entre les individus chez les populations étudiées. Cette classification a été réalisée selon la méthode du NJTree (Neighbor-Joining Tree) (Milman *et al.*, 2021) sur la base de la matrice de distance de Cavalli Sforza et Edwards (Wognin *et al.*, 2020). La matrice de distance de Cavalli-Sforza et Edwards a été obtenue à l'aide du logiciel FreeNA (Naino *et al.*, 2020). Le dendrogramme (NJTree) a été visualisé avec le logiciel MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

2.2.3.3.2. Analyse en composante principale (ACP)

Une analyse en composante principale (ACP) a été réalisée afin de représenter graphiquement les relations génétiques entre individus. L'espace formé par les axes les plus informatifs permet d'apprécier la structure génétique des populations. D'une manière générale un code couleur permet de visualiser l'appartenance de chaque individu à sa population d'origine.

2.2.3.3.3. Isolement par la distance (Test de Mantel)

Le test de Mantel, est utilisé pour mesurer et tester la corrélation linéaire entre deux matrices de proximité. En génétique des populations, ce test est utilisé pour tester l'hypothèse d'isolement par la distance en comparant une matrice des distances génétiques basées sur les données moléculaires des populations à une matrice de distances géographiques entre les sites d'origine correspondants (Diniz-Filho *et al.*, 2013). L'hypothèse nulle est que le rapport observé entre les deux matrices de distance pourrait avoir été obtenu par n'importe quel arrangement aléatoire dans l'espace des observations et que la pente de régression distance génétique/distance géographique est nulle. Ce test nous a permis d'évaluer la corrélation entre la distance génétique et la distance géographique pour les populations de *T. congolense* savane et *T. congolense* forêt vivant dans différentes régions de Côte d'Ivoire.

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Résultats

3.1.1. Distribution géographique des trypanosomoses animales

3.1.1.1. Population de l'étude

L'échantillon recueilli est constitué de 1473 animaux dont 741 bovins et 732 porcins. Ces animaux ont été identifiés dans 14 départements de la Côte d'Ivoire (Tableau III). Un tableau avec le détail des animaux prélevés par villages est donné en annexe IV.

Tableau III: Nombre d'animaux échantillonnés par espèce et par département

Départements	Animaux testés		
	Bovins	Porcins	Total
Bonon	41	136	177
Sinfra	34	108	142
Vavoua	111	175	286
Abengourou	82	28	110
Bouna	123	56	179
Ferkessédougou	170	48	218
San-Pédro	//	39	39
Soubré	28	23	51
Aboisso	70	12	82
Guiglo	6	38	44
Duékoué	10	29	39
Man	32	//	32
Danané	19	28	47
Sassandra	15	12	27
Total	741	732	1473

// : Aucun prélèvement

3.1.1.2. Prévalence sérologique de la trypanosomose animale africaine dans les départements visités

Les tests sérologiques effectués sur la population bovine ont révélé une prévalence globale de 72,87 % au CATT/sang et 45,88 % au CATT/plasma $\geq 1/4$. Des taux de séroprévalences moins élevés ont été observés chez les porcins, 38,80 % au CATT effectué sur sang total et 35,11 % au CATT effectué sur plasma (Tableau IV). L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les prévalences obtenues chez les bovins et les porcs sur l'ensemble des localités prospectées ($P < 0,001$). Chez les bovins, les prévalences sérologiques CATT/sang et CATT/plasma les plus élevées ont été enregistrées à Ferkessédougou et Bouna au Nord. Les prévalences les plus faibles ont été enregistrées à Danané et Man dans l'Ouest. Dans tous les départements, les bovins ont des antigènes de trypanosomes. Tandis que chez les porcins, les prévalences les plus élevées ont été observées à Danané et Vavoua à l'Ouest ainsi qu'à Sinfra et Bonon dans le Centre-Ouest. Les prévalences les plus faibles ont été obtenues à Ferkessédougou dans le Nord. Des prévalences nulles ont été obtenues aussi bien pour le CATT/sang et le CATT/plasma à Aboisso et à Sassandra dans le Sud (Tableau IV).

L'analyse des taux de prévalence par département montre que les bovins sont plus en contact avec les trypanosomes dans le nord du pays à Ferkessédougou (CATT sur sang total : 88,23 % pour les bovins contre 8,33 % pour les porcins ; CATT sur plasma : 79,41 % pour les bovins contre 8,33 % pour les porcins) et à Bouna (CATT sur sang total : 89,43 % pour les bovins contre 35,71 % pour les porcins ; CATT sur plasma : 69,91 % pour les bovins contre 16,07 % pour les porcins). Egalement dans la région Ouest, à Guiglo (CATT sur sang total : 88,33 % pour les bovins contre 13,43 % pour les porcins ; CATT sur plasma : 31,25 % pour les bovins contre 11,94 % pour les porcins) et à Duékoué (CATT sur sang total : 93,75 % pour les bovins contre 13,15 % pour les porcins ; CATT sur plasma : 66,66 % pour les bovins contre 13,15 % pour les porcins). Le même constat est fait dans le sud à San-Pédro (CATT sur sang total : 55,17 % pour les bovins contre 34,48 % pour les porcins ; CATT sur plasma : 15,38 % aussi bien pour les bovins que pour les porcins) et des séroprévalences nulles ont été observées chez les porcs à Sassandra et Aboisso (Tableau IV). Bien que les séroprévalences des bovins aient été les plus élevées dans le centre-ouest à Sinfra (CATT sur sang total : 66,66 % pour les bovins contre 44,44 % pour les porcins, les séroprévalences de CATT sur plasma donnaient le contraire: 15,38 % pour les bovins contre 40,74 % pour les porcins). De même, on a observé à l'Est à Abengourou une prévalence de 74,39 % chez les bovins contre 60,71 % chez les porcins

pour le CATT sur sang total et pour le CATT sur plasma, 25,61 % pour les bovins contre 60,71 % pour les porcins (Tableau IV).

Tableau IV: Résultats du test CATT sur sang total et plasma chez les bovins et les porcins dans les départements visités

	Test CATT/sang		Valeur de <i>p</i>	Test CATT/Plasma		Valeur de <i>p</i>
	Bovins (%)	Porcins (%)		Bovins (%)	Porcins (%)	
Bonon	18 (43,90)	60 (44,11)	1 ^{ns}	12 (29,27)	60 (44,11)	0,129 ^{ns}
Sinfra	26 (66,66)	48 (44,44)	0,028 [*]	6 (15,38)	44 (40,74)	0,013 ^{a*}
Abengourou	61 (74,39)	17 (60,71)	0,256 ^{ns}	21 (25,61)	17 (60,71)	0,002 ^{a**}
Bouna	110 (89,43)	20 (35,71)	< 0,001 ^{***}	86 (69,91)	9 (16,07)	< 0,001 ^{a***}
Ferkessedougou	150 (88,23)	4 (8,33)	< 0,001 ^{***}	135 (79,41)	4 (8,33)	< 0,001 ^{a***}
Man	5 (15,62)	ND	NR	4 (12,5)	ND	NR
Danané	5 (35,71)	22 (78,57)	0,0147 ^{b*}	2 (14,28)	20 (71,42)	0,002 ^{a**}
Duekoué	15 (93,75)	9 (13,43)	< 0,001 ^{b***}	5 (31,25)	8 (11,94)	0,117 ^{b.*}
Guiglo	5 (83,33)	5 (13,15)	0,001 ^{b***}	4 (66,66)	5 (13,15)	0,013 ^{b.*}
Aboisso	46 (65,71)	0 (0,0)	< 0,001 ^{a***}	17 (24,28)	0 (0,0)	0,063 ^{b.ns}
San-Pédro	16 (55,17)	6 (15,38)	0,001 ^{a***}	10 (34,48)	6 (15,38)	0,121 ^{a.ns}
Soubré	15 (53,57)	3 (13,04)	0,006 ^{a**}	10 (35,71)	3 (13,04)	0,127 ^{a.ns}
Sassandra	10 (66,66)	0 (0,0)	0,0004 ^{b***}	4 (26,66)	0 (0,0)	0,106 ^{b.ns}
Vavoua	58 (52,72)	90 (51,42)	0,988 ^{ns}	24 (21,62)	80 (45,71)	< 0,001 ^{a***}
Global	540 (72,87)	284 (38,80)	< 0,001^{a***}	340 (45,88)	257 (35,11)	< 0,001^{a***}

Aucun échantillonnage ; *p* : probabilité associée au test statistique ; a : approximation du Khi deux d'indépendance ; b : test exact de Fisher ; * : p-value entre 0,05 et 0,01 ; ** : p-value entre 0,01 et 0,001 ; *** : p-value inférieure à 0,00 ; ^{ns} : valeur non significative, ND : non défini.

3.1.1.3. Prévalence parasitologique de la trypanosomose animale dans les départements visités

L'examen parasitologique du Buffy Coat Test (BCT) a permis de dépister 145 infections aux trypanosomes sur 1473 animaux examinés, soit une prévalence globale de 9,84 %. Les porcins ont constitué l'espèce la plus infectée avec une prévalence de 14,20 % contre 5,53 % chez les bovins. Les prévalences obtenues ont varié significativement ($p < 0,001$) entre les différents départements. La majorité des infections actives chez les porcins ont été détectés à Guiglo (75 %) dans l'Ouest et le plus faible taux d'infection a été enregistré dans le département de Bouna (5,35 %), au Nord. Aucun cas d'infection n'a été détecté dans les départements de Ferkessédougou, Duékoué, San-Pédro, Sassandra et Aboisso. Chez les bovins, de faibles prévalences ont été obtenues dans l'ensemble des départements prospectés, allant de 2,43 % à Abengourou à 33,33 % à Guiglo. On remarque également une absence d'infection dans les départements de Duékoué, Man, Danané San-Pédro et Sassandra (Tableau V).

Un taux d'infection global de 11,20 % a été obtenu au test de la mini-colonne échangeuse d'anion (mAECT) et les porcins ont été les plus infectés avec une prévalence de 18,71 %. Les prévalences ont varié significativement ($p < 0,001$) entre les différentes localités. Chez les porcins, la prévalence la plus élevée a été détectés à Guiglo dans l'Ouest avec 87,5 % et le plus faible taux d'infection a été de 7,14 %, enregistré au Nord dans le département de Bouna et à l'Ouest à Danané. Aucun cas d'infection n'a été détecté dans les départements de Ferkessédougou, Sassandra et Aboisso. Chez les bovins, le plus grand nombre d'infection a été observé également à Guiglo (33,33 %) et le plus faible taux a été de 2,43 % à Abengourou. On remarque également une absence d'infection dans les localités de Duékoué, Man, Danané San-Pédro, Vavoua et Sassandra (Tableau V).

Tableau V : Résultat du BCT et de la mAECT chez les bovins et porcins des différentes localités prospectées

Départements	Nombre de bovins	Nombre de porcins	Test du Buffy Coat		Valeur de <i>p</i>	Test de la mAECT		Valeur de <i>p</i>
			Bovins (%)	Porcins (%)		Bovins (%)	Porcins (%)	
Bonon	41	136	3 (7,231)	31 (22,79)	0,0274 ^{a**}	9 (21,95)	30 (22,05)	0,988 ^{a ns}
Sinfra	34	108	2 (5,12)	10 (9,25)	0,731 ^{b ns}	2 (5,12)	20 (18,51)	0,076 ^{a*}
Abengourou	82	28	2 (2,43)	11 (39,28)	< 0,001 ^{b***}	2 (2,43)	11 (39,28)	< 0,001 ^{b***}
Bouna	123	56	10 (8,13)	3 (5,35)	0,757 ^{b ns}	7 (5,69)	4 (7,14)	0,742 ^{b ns}
Ferkessédougou	170	48	13 (7,64)	0 (0,0)	0,077 ^{b ns}	4 (2,35)	0 (0,0)	0,578 ^{b ns}
Man	32	//	0 (0,0)	ND	ND	0 (0,0)	ND	ND
Danané	14	28	0 (0,0)	6 (21,42)	0,083 ^{b ns}	0 (0)	2 (7,14)	0,545 ^{b ns}
Duekoué	10	29	0 (0,0)	0 (0,0)	1,000 ^{b ns}	0 (0,0)	3 (10,25)	0,556 ^{b ns}
Guiglo	6	38	2 (33,33)	6 (75)	0,297 ^{b ns}	2 (33,33)	7 (87,5)	0,586 ^{b ns}
Aboisso	70	12	4 (5,71)	0 (0,0)	1,000 ^{b ns}	1 (1,42)	0 (0,0)	1,000 ^{b ns}
San-Pédro	//	39	ND	0 (0,0)	ND	ND	4 (10,25)	ND
Soubré	28	23	2 (8,69)	2 (16,66)	1,000 ^{b ns}	1 (3,57)	2 (8,67)	0,582 ^{b ns}
Sassandra	15	12	0 (0,0)	0 (0,0)	1,000 ^{b ns}	0 (0,0)	0 (0,0)	1,000 ^{b ns}
Vavoua	111	175	3 (2,70)	35 (20)	< 0,001 ^{a***}	3 (2,70)	54 (30,85)	< 0,001 ^{a***}
Total	741	732	41 (5,53)	104 (14,20)	< 0,001^{a***}	28 (3,77)	137 (18,71)	< 0,001^{a***}

// : Aucun échantillonnage ; *p* : probabilité associée au test statistique ; a : approximation du Khi deux d'indépendance ; b : test exact de Fisher ; * : p-value entre 0,05 et 0,01 ; ** : p-value entre 0,01 et 0,001 ; *** : p-value inférieure à 0,00 ; ns : valeur non significative, ND : non défini

3.1.1.4. Caractérisation moléculaire des trypanosomes

Trois espèces de trypanosomes, *T. brucei*, *T. congolense* et *T. vivax* ont été retrouvées dans les régions prospectées. Une illustration d'un gel PCR présentant des profils de migration est donnée en figure 14. *Trypanosoma brucei* s.l, à laquelle appartient la sous-espèce pathogène pour l'homme (*Trypanosoma brucei gambiense*) est majoritairement observé chez les bovins testés dans le Nord (Ferkessédougou : 23 % et Bouna : 17,88 %) et l'Ouest (Man : 43,75 %). Les plus faibles prévalences ont été obtenues dans le Sud, à Aboisso (5,71 %) et le Sud-Ouest, à Soubré (3,57 %). A Guiglo, Duékoué et Sassandra, aucune infection à *T. brucei* s.l n'a été détectée (Tableau VI). Au niveau des porcs, les taux d'infections à *T. brucei* s.l ont été plus importants au Centre-Ouest (Sinfra : 42,6 %) et à l'Ouest (Danané : 35,71 %). La plus faible prévalence a été enregistrée dans le Sud-Ouest, à San-Pédro (10,25 %). En outre, aucune infection à *T. brucei* n'a été détectée chez les porcs examinés à Ferkessédougou, Aboisso, Soubré et Sassandra (Tableau VII).

En ce qui concerne l'infection à *T. congolense* type forêt, de faibles prévalences ont été observées chez les bovins, allant de 2,35 % dans le Nord, à Bouna, à 10,71 % dans le Sud-Ouest, à Soubré. Aucune infection n'a été recensée à Vavoua, Duékoué, Guiglo, Sinfra et Sassandra (Tableau VI). Les taux d'infections les plus élevés chez les porcs ont été observés dans l'Est du pays, à Abengourou (25 %) et à Sinfra, dans le Centre-Ouest (18,51 %). La prévalence la plus faible a été observée dans le Nord, à Ferkessédougou (2 %). Aucune infection n'a été recensée à Sassandra et Bouna (Tableau VII). De rares infections à *T. congolense* type savane ont été enregistrées chez les bovins, seulement dans l'Ouest à Guiglo (16,66 %), dans le Nord, à Ferkessédougou (8,82 %) et Bouna (8,13 %), dans le Sud-Ouest à Soubré (3,57 %), dans l'Est à Abengourou (2,43 %) et dans le Sud-Est, à Aboisso (1,42 %) (Tableau VI). Chez les porcs, seulement Bouna a enregistré des infections (1,78 %) (Tableau VII).

Au niveau de l'infection à *T. vivax*, les prévalences les plus élevées ont été observées chez les bovins dans le nord, à Bouna (19,51 %) et dans l'Ouest, à Guiglo (16,66 %). La prévalence la plus faible a été observée dans le Centre-Ouest, à Bonon (4,87 %). Les localités de Sinfra, Abengourou, Man, Duékoué, Sassandra et Vavoua n'ont enregistré aucune infection (Tableau VI). Chez les porcs, de faibles prévalences ont été observées en générale. Ce sont dans le Sud-Est, à Aboisso, 16,66 %, dans l'Ouest à Guiglo, 5,26 % et Danané, 10,71 %, dans le Nord à Bouna, 10,71 %, dans le Sud-Ouest à Soubré, 4,33 % et dans le Centre-Ouest à

Vavoua, 3,42 %. Aucune infection n'a été détectée à Bonon, Sinfra, Abengourou, Ferkessédougou, Duékoué, San-Pédro et Sassandra (Tableau VII).

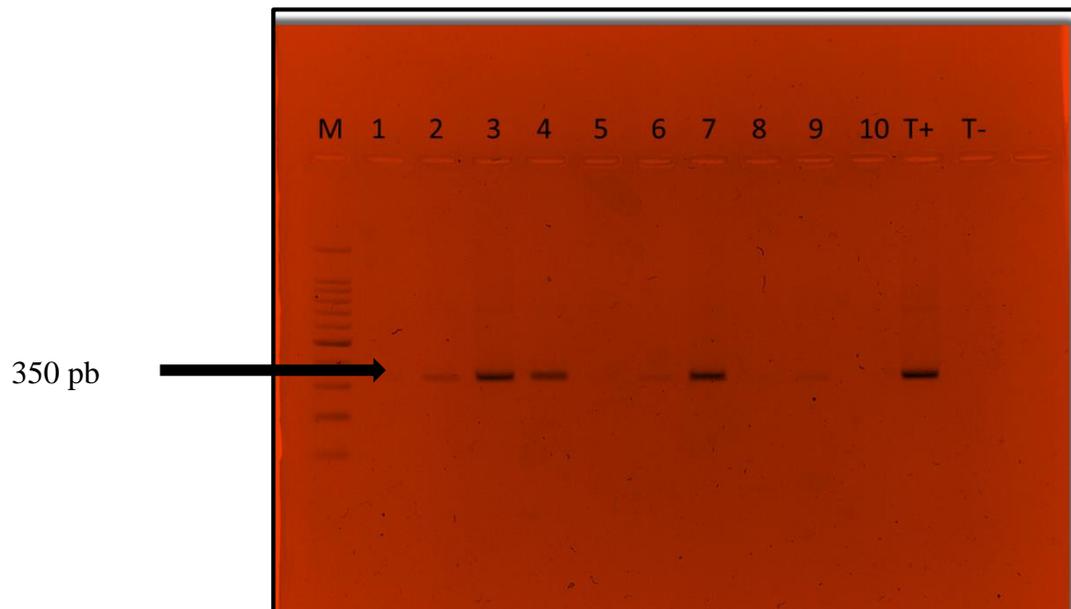


Figure 14 : Image de révélation de l'ADN de l'espèce *T. congolense forêt* sur gel d'agarose. Les échantillons 2, 3, 4, 7 sont positifs à *T. congolense forêt* (350 pb correspondent à la bande diagnostic de *T. congo forêt*), T₁₊ et T₁₋ sont les témoins positif et négatif de *T. congolense forêt* respectivement. M correspond au marqueur de poids.

Tableau VI : Prévalence des différentes espèces de trypanosomes chez les bovins par localité

Départements	N	TBR (%)	TVW (%)	TCF (%)	TCS (%)
Bonon	41	5(12,2)	2(4,87)	3(7,31)	0 (0)
Sinfra	39	4(10,25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Abengourou	82	5 (6,09)	0 (0)	5(6,09)	2 (2,43)
Bouna	123	22 (17,88)	24(19,51)	7(5,7)	10 (8,13)
Ferkessédougou	170	39 (23)	16 (9,41)	4 (2,35)	15(8,82)
Man	32	14 (43,75)	0(0)	1(3,12)	0 (0)
Danané	14	1(7,14)	1(7,14)	1(7,14)	0 (0)
Duékoué	10	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Guiglo	6	0 (0)	1(16,66)	0 (0)	1(16,66)
Aboisso	70	4 (5,71)	7(10)	6(8,57)	1(1,42)
SanPédro	//	//	//	//	//
Soubré	28	1 (3,57)	2(7,14)	3(10,71)	1(3,57)
Sassandra	15	0 (0,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Vavoua	111	7 (6,30)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	741	102 (13,76)	53 (7,15)	30 (4,04)	30 (4,04)
<i>Valeur de p</i>		< 0,001 ^{b.***}	< 0,001 ^{b.***}	0,086 ^{ns}	0,0056 ^{ns}

TBR : *Typanosoma brucei brucei*; TCF : *Typanosoma congolense* forêt; TCS : *Typanosoma congolense* savane; TVW : *Typanosoma vivax* ; N : nombre d'animaux prélevé ; // : Aucun échantillonnage ; *p* : probabilité associée au test statistique ; a : approximation du Khi deux d'indépendance ; b : test exact de Fisher ; * : p-value entre 0,05 et 0,01 ; ** : p-value entre 0,01 et 0,001 ; *** : p-value inférieure à 0,00 ; ^{ns} : valeur non Significative.

Tableau VII: Prévalence des différentes espèces de trypanosomes chez les porcins par localité

Départements	N	TBR (%)	TVW (%)	TCF (%)	TCS (%)
Bonon	136	39(28,67)	0 (0)	16 (11,76)	0 (0)
Sinfra	108	46(42,59)	0 (0)	20 (18,51)	0 (0)
Abengourou	28	5 (17,85)	0 (0)	7 (25,00)	0 (0)
Bouna	56	8 (14,28)	6(10,71)	0 (0)	1(1,78)
Ferkessédougou	48	0 (0)	0 (0)	1 (2,08)	0 (0)
Man	//	//	//	//	//
Danané	28	10 (35,71)	3(10,71)	1(3,57)	0 (0)
Duékoué	29	3 (10,34)	0 (0)	2(6,89)	0 (0)
Guiglo	38	6(15,78)	2(5,26)	5(13,15)	0 (0)
Aboisso	12	0 (0)	2(16,66)	1(8,33)	0 (0)
San-Pédro	39	4 (10,25)	0(0)	2(5,12)	0 (0)
Soubré	23	0 (0)	1(4,33)	1(4,33)	0 (0)
Sassandra	12	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Vavoua	175	59(33,71)	6(3,42)	26(14,85)	0 (0)
Total	732	180 (24,59)	20 (2,73)	82 (11,20)	1(0,13)
Valeur de p		< 0,001^{b,***}	< 0,001^{b,***}	0,0018**	0,4386^{ns}

TBR : *Typanosoma brucei brucei* ; TCF : *Typanosoma congolense* forêt; TCS : *Trypanosoma congolense* savane ; TVW : *Trypanosoma vivax* ; N : nombre d'animaux prélevé ; // : Aucun échantillonnage ; p : probabilité associée au test statistique ; a : approximation du Khi deux d'indépendance ; b : test exact de Fisher ; * : p-value entre 0,05 et 0,01 ; ** : p-value entre 0,01 et 0,001 ; *** : p-value inférieure à 0,00 ; ns : valeur non significative.

Au total, 466 animaux ont été testés positifs à au moins une espèce de trypanosome sur 1473 animaux testés, soit une prévalence globale de 31,63 %. Parmi ces infections, 19,14 % sont rapportés à *T. brucei* et 7,60 % à *T. congolense* type forêt. Pour *T. vivax* et *T. congolense* type savane, les prévalences observées sont respectivement de 5 % et 2 % (Tableau VIII). Sur l'ensemble des animaux infectés par *T. brucei*, les porcs ont eu les plus forts taux d'infections (24,6 %) comparés aux bovins (13,76 %). La même observation a été faite pour *T. congolense* type forêt (11,20 % pour les porcs contre 4 % pour les bovins). Par contre, les bovins ont été plus infectés que les porcs par *T. vivax* et *T. congolense* type savane (7,15 % contre 2,73 % pour *T. vivax* et 4 % contre 0,13 % pour *T. congolense* type savane) (Tableau VIII). La répartition géographique des différentes espèces de trypanosomes retrouvées chez les animaux domestiques des différentes régions prospectées est illustrée par les figures 15 et 16.

Tableau VIII : Prévalence moléculaire des infections aux trypanosomes observées chez les animaux domestiques (bovins et porcs)

Espèces animales	N	TBR (%)	TVW (%)	TCF (%)	TCS (%)
Bovins	741	102 (13,76)	53 (7,15)	30 (4)	30 (4)
Porcs	732	180 (24,6)	20 (2,73)	82 (11,20)	1 (0,13)
Total	1473	282 (19,14)	73 (5)	112 (7,60)	31 (2)
Valeur <i>p</i>		< 0,001 ^{a***}	0,001 ^{a***}	< 0,001 ^{a***}	< 0,001 ^{a***}

TBR : *Typanosoma brucei brucei* ; TCF : *Typanosoma congolense* « forêt » ; TCS: *Trypanosoma congolense* « savane » ; TVW : *Trypanosoma vivax* ; N : nombre d'animaux prélevé ; *p* : probabilité associée au test statistique ; a : approximation du Khi deux d'indépendance ; b : test exact de Fisher ; * : *p*-value entre 0,05 et 0,01 ; ** : *p*-value entre 0,01 et 0,001 ; *** : *p*-value inférieure à 0,00.

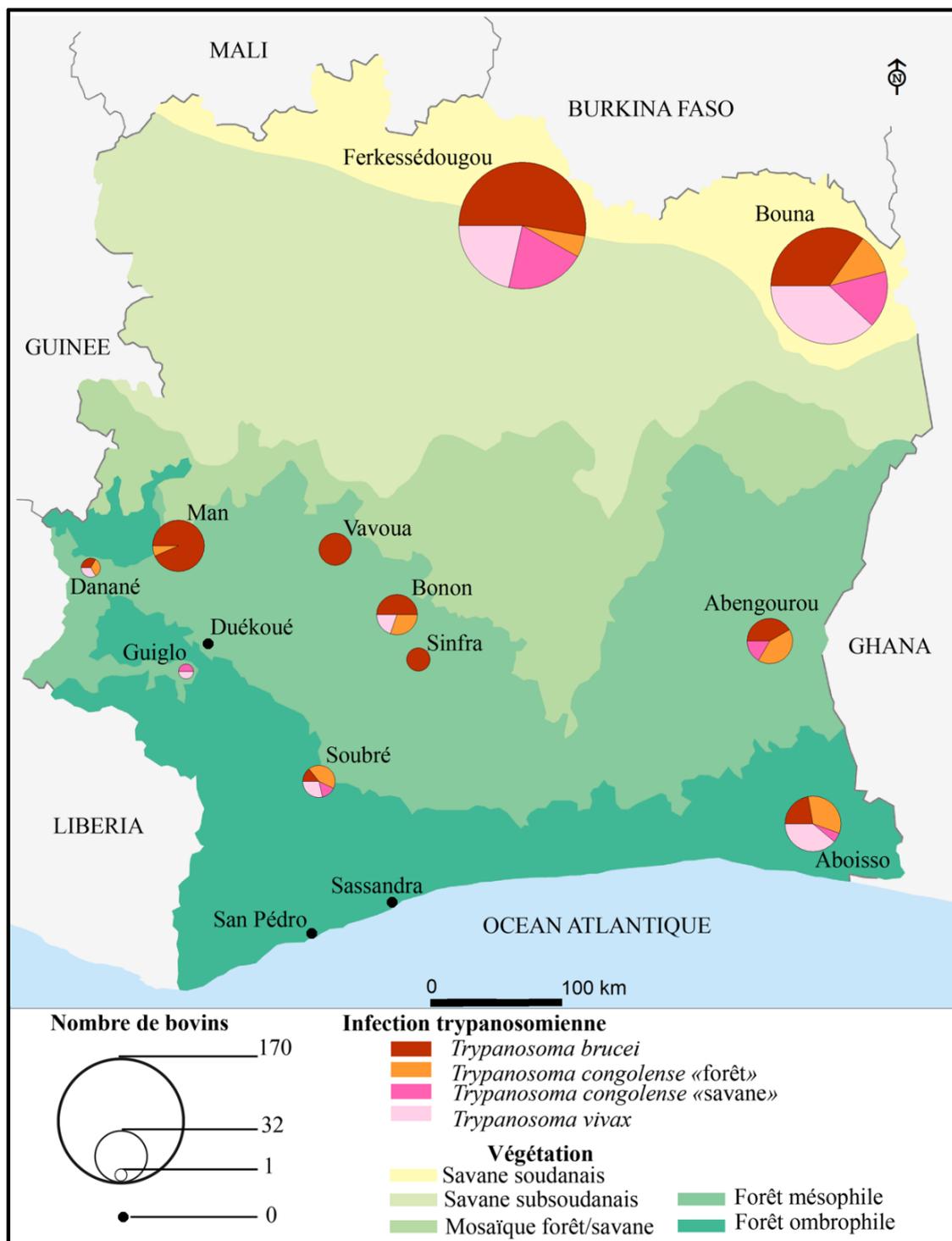


Figure 15 : Distribution géographique des trypanosomes rencontrés chez les bovins en Côte d'Ivoire basée sur les résultats PCR

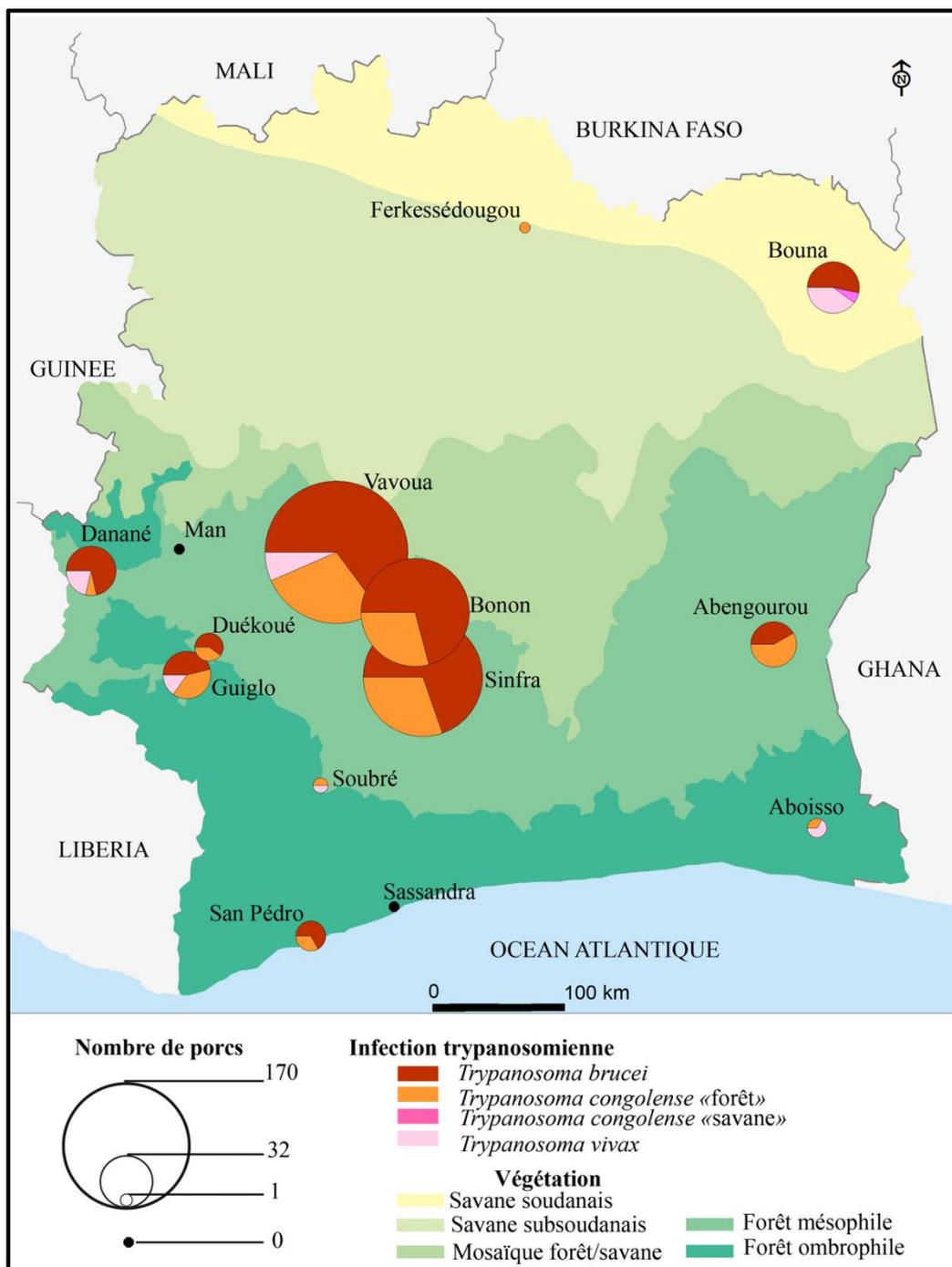


Figure 16 : Distribution géographique des trypanosomes rencontrés chez les porcs en Côte d'Ivoire basée sur les résultats PCR

3.1.1.5. Evaluation de la performance des tests sérologiques et parasitologiques pour le diagnostic des trypanosomoses

Les résultats de l'analyse de la performance des tests sérologiques (CATT/sang et CATT/plasma) et parasitologiques (BCT et mAECT) pour le diagnostic de la TAA sont présentés dans le tableau IX. Ces tests ont été appliqués sur une population de 1473 animaux domestiques. Dans cette population, le nombre d'individus infectés identifié par le test gold standard, la PCR, est de 466 et les non infectés sont au nombre de 1007. Le test CATT sur sang total a permis de dépister 279 malades, soit une sensibilité de 76,64 %. 565 individus ont été négatifs à ce test, soit une spécificité de 50,94 %. La proportion des CATT/sang positifs qui correspond à de vrais individus infectés (VPP) est de 33,90 % et celle des CATT/sang négatifs qui correspond à des non-infectés (VPN) est de 86,69 %. Le test CATT sur plasma a permis de dépister 273 infectés et a été négatif pour 222 individus soit une sensibilité de 87,22 % et une spécificité de 59,34 %. Les VPP et VPN sont respectivement de 45,73 % et 84,73 %. En ce qui concerne les tests parasitologiques, le BCT a présenté une sensibilité de 26,19 % et une spécificité de 96,67 % et la mAECT, une sensibilité de 72,22 % et une spécificité de 97,37 %. Les VPP et VPN sont respectivement de 75,86 % et 76,65 % pour le BCT et de 79,26 % et 96,18 % pour la mAECT.

Tableau IX : Performance des tests sérologiques et parasitologiques pour le diagnostic des trypanosomoses

Tests	VP	VN	FP	FN	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
CATT/sang	279	565	544	85	76,64	50,94	33,90	86,69
CATT/Pasma	273	222	324	40	87,22	59,34	45,73	84,73
mAECT	130	1259	34	50	72,22	97,37	79,26	96,18
BCT	110	1018	35	310	26,19	96,67	75,86	76,65

VP : vrai positif; FN : faux négatif; VN : vrai négatifs; FP : faux positifs; Se : sensibilité; Sp : spécificité ; VPP : proportion des tests positifs qui correspond à de vrais individus infectés; VPN: proportion des tests négatifs qui correspond à des non-infectés.

3.1.2. Diversité génétique des populations de l'espèce *Trypanosoma congolense*

3.1.2.1. Profils génotypiques

La diversité génétique de *T. congolense* a été étudiée à partir d'un effectif de 11 souches de *T. congolense* savane et 20 souches de *T. congolense* forêt, toutes isolées chez les bovins et les porcs des villages visités. Dans l'ensemble, deux types de profils génotypiques ont été obtenus : les homozygotes, caractérisés par deux allèles identiques, représentés par un seul pic (Figure 17) et les hétérozygotes, caractérisés par deux allèles différents, représentés par deux pics (Figure 18). Les tableaux X et XI présentent l'ensemble des génotypes obtenus respectivement pour *T. congolense* savane et *T. congolense* forêt à la suite du génotypage.

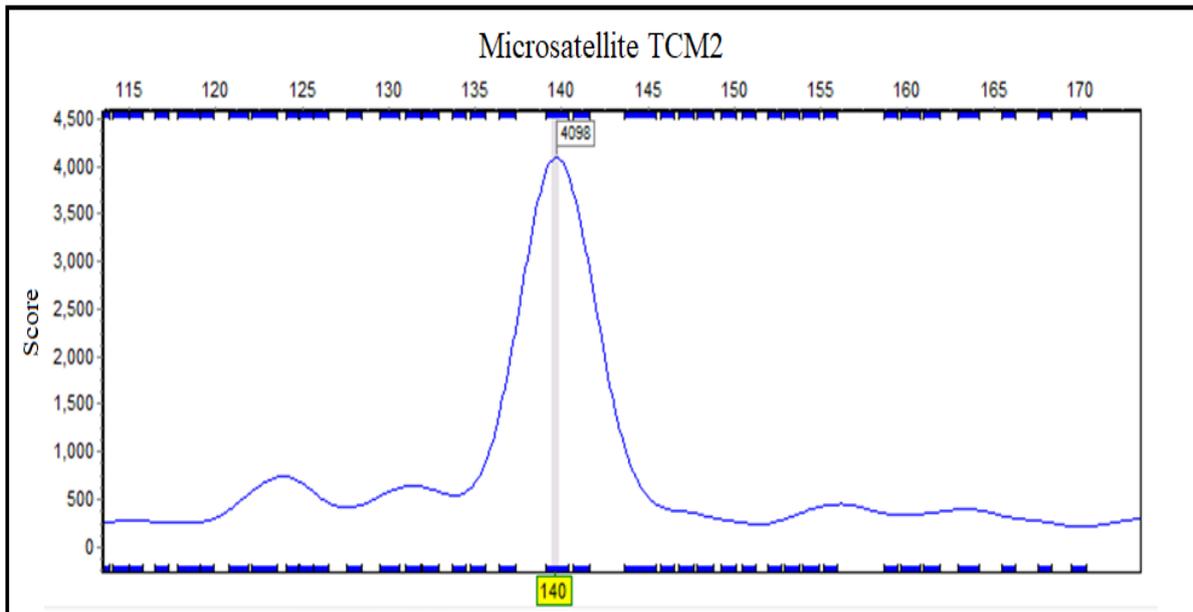


Figure 17 : Profil mono-allélique représentant un homozygote (140-140) détecté chez *T. congolense*.

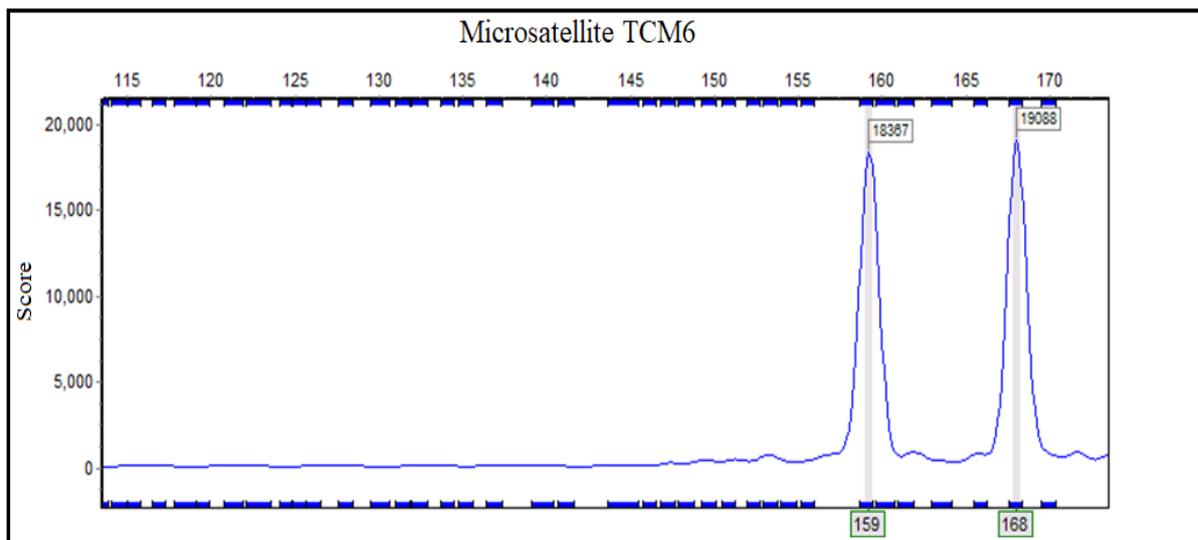


Figure 18 : Profil bi-allélique représentant un hétérozygote (159-168) détecté chez *T. congolense*.

Tableau X : Génotypes des onze souches de *T.congolense* type savane aux différents loci étudiés.

Numéro	Code	Marqueurs microsatellites				
		TCM2	TCM3	TCM4	TCM6	TCM7
1	LAE2P2B4	120/130	150/190	123/131	220/293	150/200
2	LAE1P1B4	140/140	113/231	300/350	175/210	150/158
3	TOE1P1B6	142/148	150/190	102/131	159/168	250/259
4	LAE2P2B5	144/144	168/336	154/259	118/118	150/200
5	TRE2P2B2	140/144	168/336	154/259	250/300	150/200
6	KDP3P3	148/150	168/336	130/152	220/293	150/200
7	LAE2P2B3	148/150	100/104	130/152	137/147	150/200
8	BAE1P1B1	220/293	150/190	150/154	220/293	140/140
9	KAE1P1P6	220/293	150/190	200/300	250/300	140/150
10	SAE1P1P1	231/309	168/336	123/131	104/104	115/131
11	TIE4P4P1	177/399	309/372	156/158	228/228	100/100

Tableau XI : Génotype des vingt souches de *T. congolense* type forêt aux différents loci étudiés.

Numéro	Code	Marqueurs microsatellites				
		TCM2	TCM3	TCM4	TCM6	TCM7
1	BOE1P1P1	135/147	113/231	300/350	150/200	150/158
2	GP4P1	135/147	168/336	146/148	111/269	140/140
3	VE5P1P2	135/147	190/200	130/152	155/349	150/200
4	VE5P2P1	135/147	150/200	130/152	150/200	200/250
5	SAE1P1B1	147/161	168/336	130/152	155/349	122/128
6	VE6P3P3	147/161	190/200	130/152	200/250	104/156
7	WP9P3	200/250	168/336	130/152	150/200	140/200
8	1SP35P17	200/250	150/190	130/152	150/200	150/200
9	KDP2P2	200/250	150/190	130/152	150/190	150/200
10	KOP2P14	200/250	190/200	160/166	148/220	150/200
11	VE6P6P2	200/250	190/190	300/350	200/250	150/200
12	KAE1P1B6	250/300	190/200	300/200	250/300	150/200
13	KDP2P6	250/300	190/200	200-300	250-300	150-150
14	KOP2P7	250/300	150/200	290/400	250/300	200/250
15	SAE1P1B3	250/300	190/200	300/350	150/200	150/200
16	SAE1P1B4	250/300	190/200	150/300	150/190	200/250
17	WAP2	250/300	190/200	300/400	200/150	150/200
18	WP16P6	250/300	190/200	161/170	243/293	150/200
19	WEKE2P2B7	135/350	190/190	300/350	150/200	150/200
20	WP19P7	250/350	150/190	200/300	150/300	140/150

3.1.2.2. Fréquences alléliques et polymorphisme

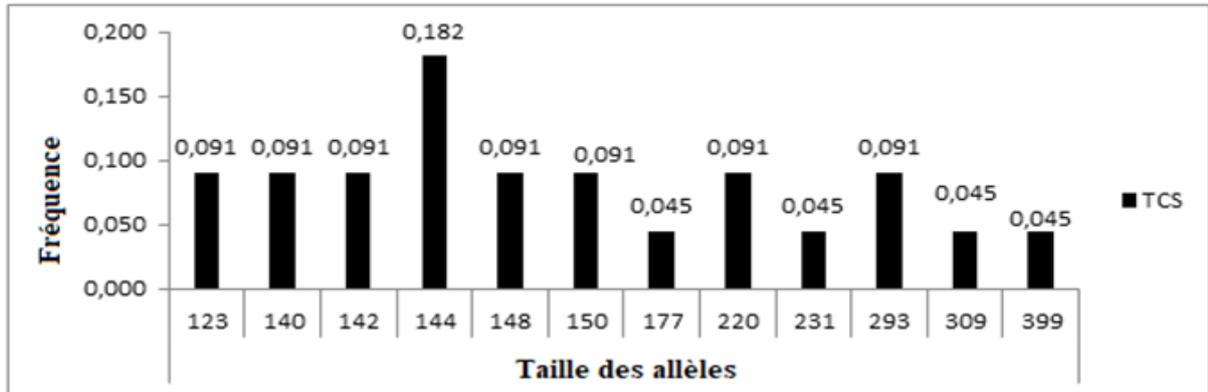
Un total de 55 allèles a été identifié dans la population de *T. congolense* savane pour les cinq marqueurs utilisés, ce qui correspond à un nombre moyen d'allèles de 11. Le nombre d'allèles observés par locus varie de 9 (TCM3 et TCM7) à 13 (TCM6). La taille des allèles a varié de 100 pb à 399 pb (Tableau XII). Aucun allèle n'a présenté une fréquence supérieure ou égale à 95 %. Tous les loci sont donc polymorphes (Figure 19). D'une manière générale, les valeurs de PIC sont assez élevées. La valeur moyenne obtenue pour l'ensemble des amorces est de 86,3 % (Tableau XII).

Dans la population de *T. congolense* forêt, un total de 51 allèles a été détecté sur les cinq loci analysés. Le nombre moyen d'allèles est de 10,2 et il varie entre 7 (loci TCM2 et TCM3) à 14 (loci TCM4 et TCM6). La taille des allèles a varié de 104 pb à 400 pb (Tableau XII). La fréquence de chaque allèle est inférieure à 95 %, tous les loci sont également polymorphes (Figure 20). Les valeurs du PIC par locus sont supérieures à 50 % et correspondent à une moyenne de 76,2 % (Tableau XII).

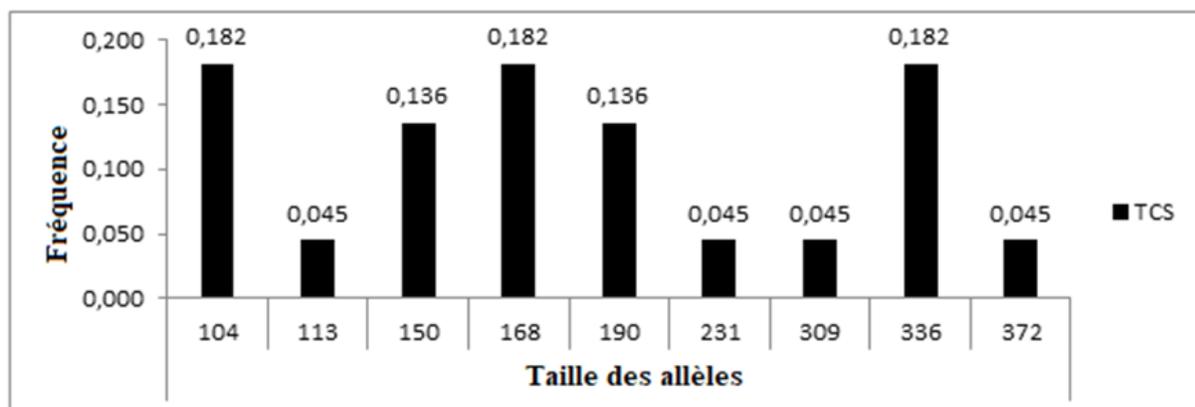
Tableau XII : Nombre et taille des allèles obtenus avec 5 marqueurs microsatellites utilisés dans la population de *Trypanosoma congolense* étudiée

Loci	TCS				TCF			
	Nombre total d'allèles	P (%)	PIC	Taille des allèles en pb	Nombre total d'allèles	P (%)	PIC	Taille des allèles en pb
TCM2	12	100	0,893	123-399	7	100	0,789	135-350
TCM3	9	100	0,838	104-372	7	100	0,692	113-336
TCM4	12	100	0,874	102-350	14	100	0,826	130-400
TCM6	13	100	0,888	104-372	14	100	0,845	111-349
TCM7	9	100	0,826	100-259	9	100	0,659	104-250
Population globale	55	100	0,863	100-399	51	100	0,762	104-400
Am	11				10,2			

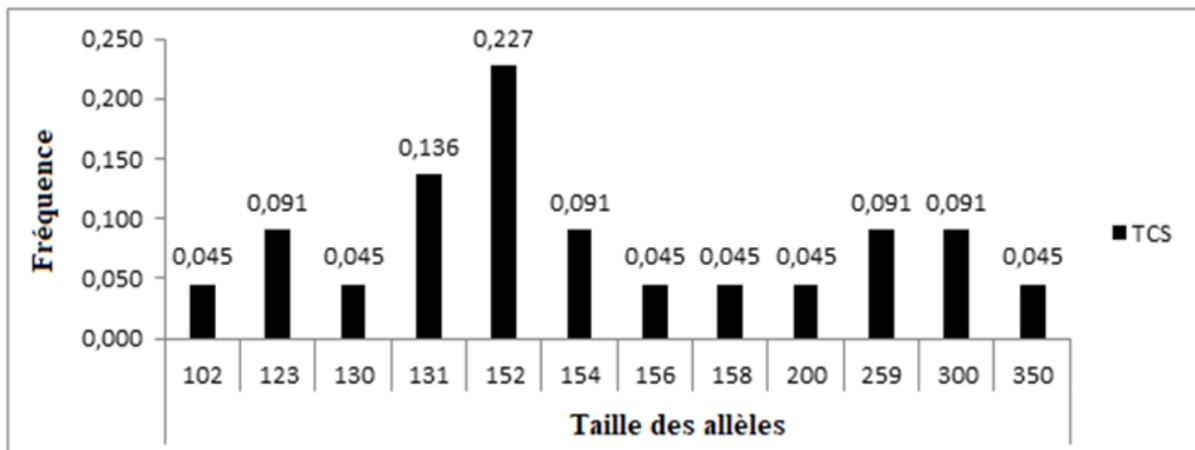
Am : nombre moyen d'allèles identifiés, P (%) : Taux de polymorphisme ; PIC : contenu en polymorphisme informatif ; TCF : *Trypanosoma congolense* forêt; TCS : *Trypanosoma congolense* savane



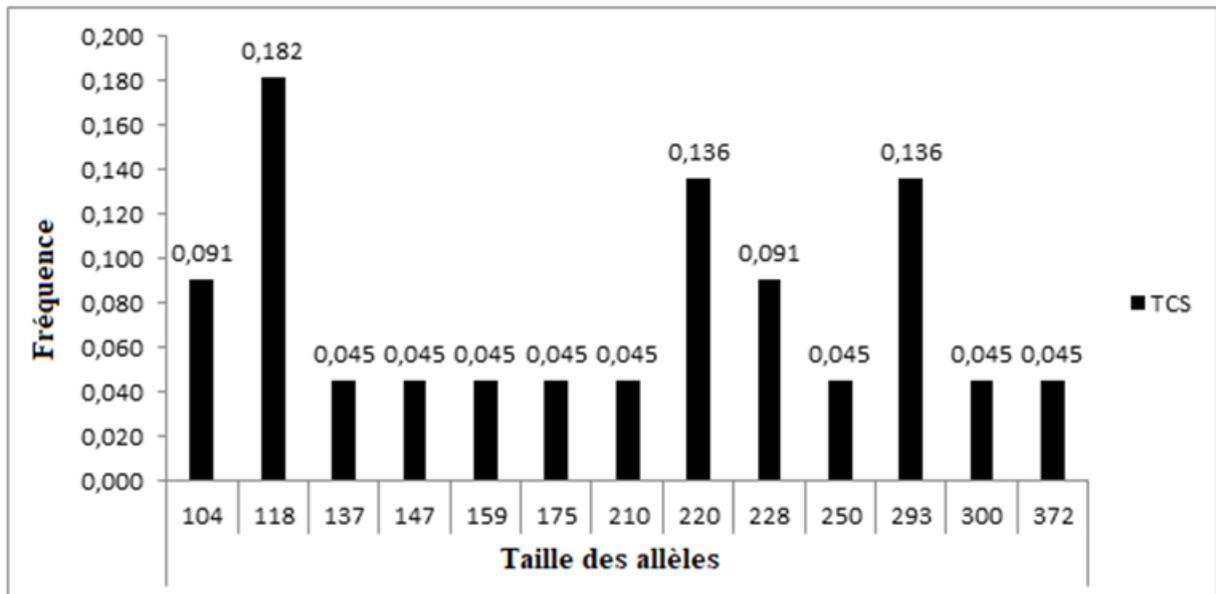
a) Fréquences alléliques au locus TCM2



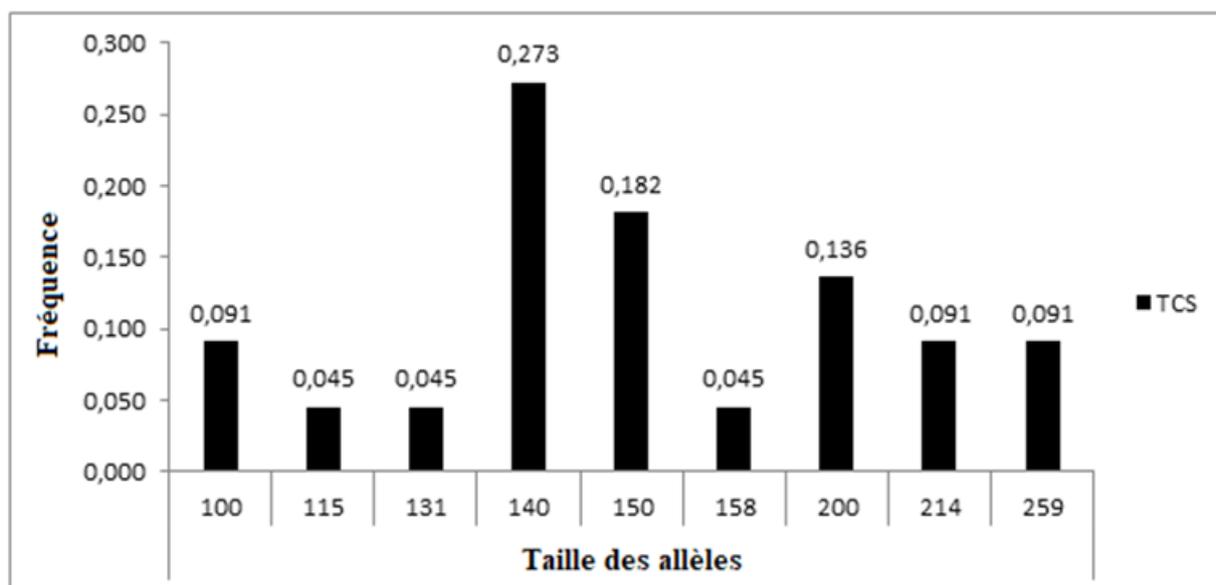
b) Fréquences alléliques au locus TCM3



c) Fréquences alléliques au locus TCM4

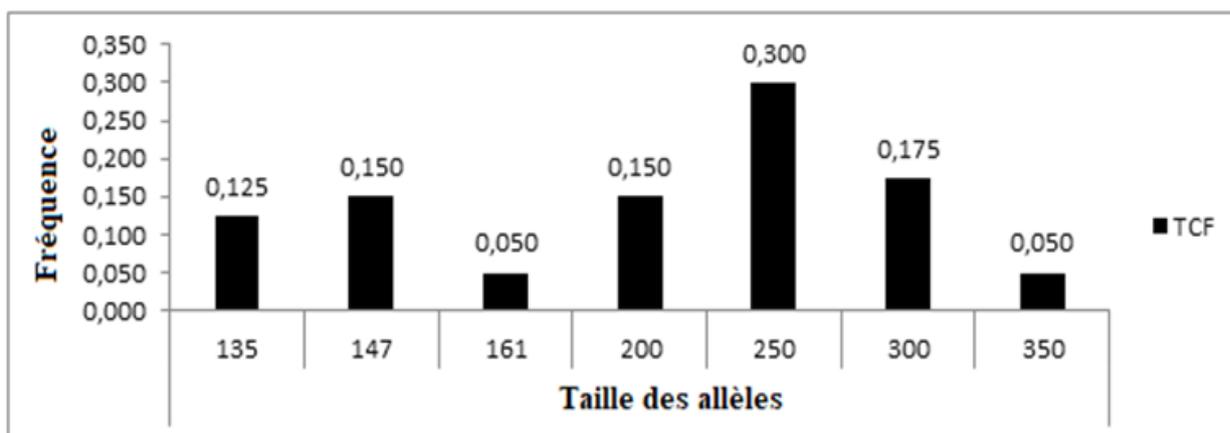


d) Fréquences alléliques au locus TCM6

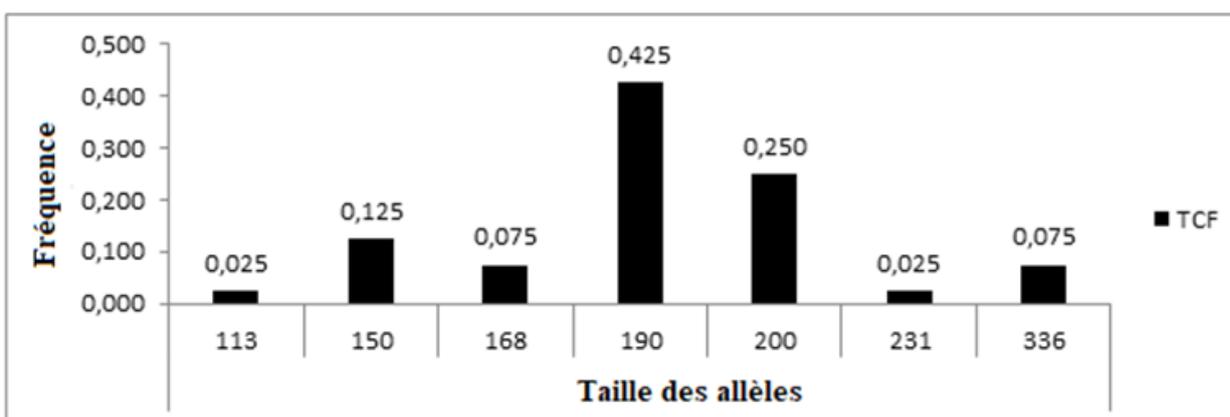


e) Fréquences alléliques au locus TCM7

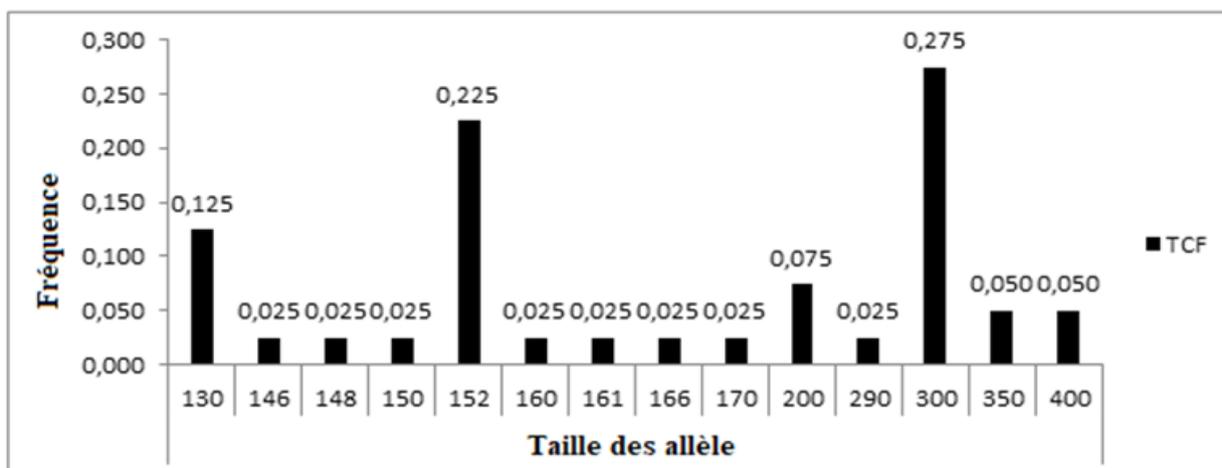
Figure 19 : Fréquence allélique par locus de la population *T. congolense* savane



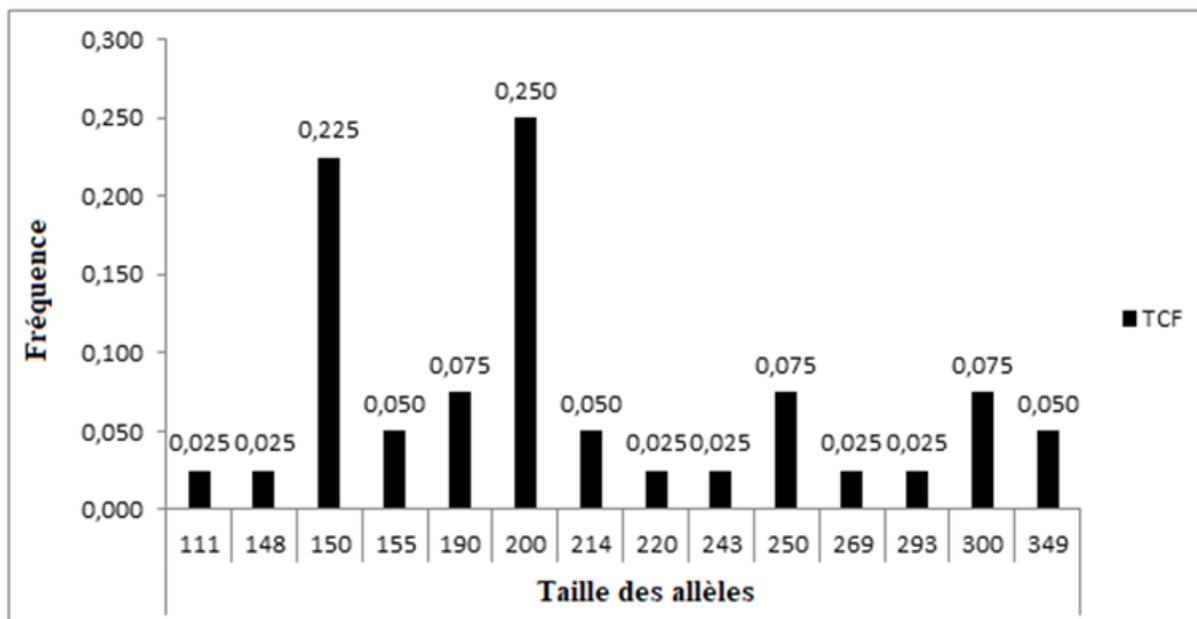
a) Fréquences alléliques au locus TCM2



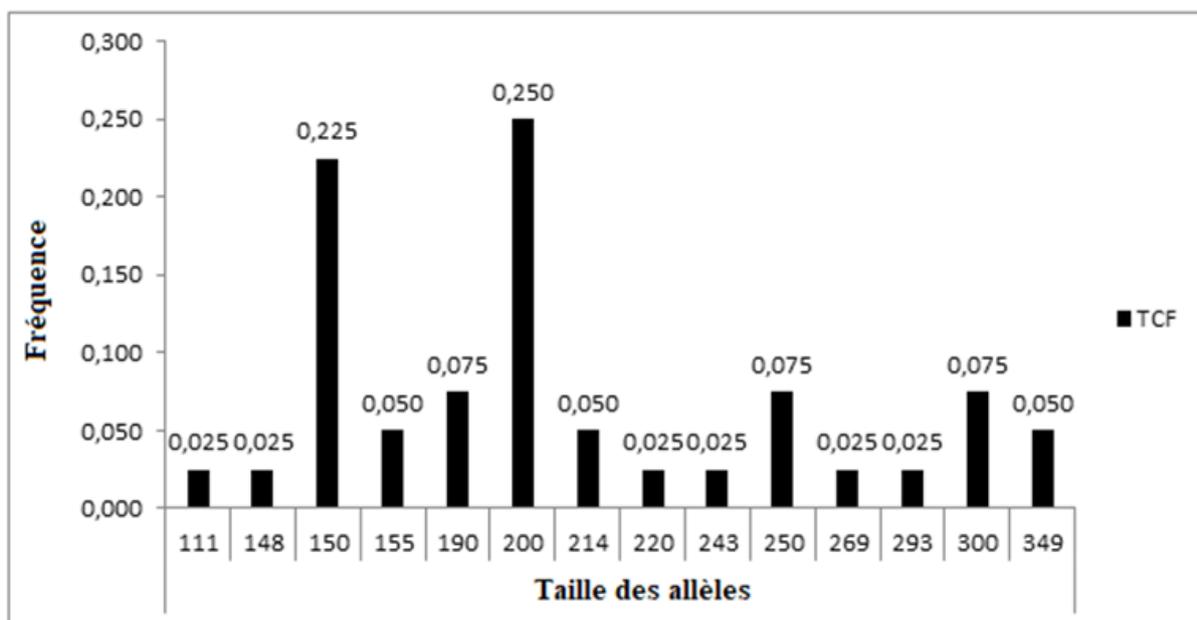
b) Fréquences alléliques au locus TCM3



c) Fréquences alléliques au locus TCM4



d) Fréquences alléliques au locus TCM6



e) Fréquences alléliques au locus TCM7

Figure 20 : Fréquences alléliques par locus de la population *T. congolense* forêt

3.1.3. Structure génétique du complexe *Trypanosoma congolense*

3.1.3.1. Hétérozygotie et équilibre génétique

La population de *T. congolense* savane a présenté de faibles valeurs d'hétérozygoties observée comparativement à celle de *T. congolense* forêt pour les cinq loci.

Les hétérozygoties observées (H_o) varient de 0,455 à 0,818, tandis que les hétérozygoties attendues (H_e) sont comprises entre 0,843 et 0,901 (Tableau XIII). Sous l'hypothèse de HardyWeinberg, la population de *T. congolense* savane a montré un déficit significatif en hétérozygotes avec les valeurs positives de F_{IS} (Figure 21).

Dans la population de *T. congolense* forêt, trois loci (TCM2, TCM3 et TCM7) sur cinq décrivent un excès en génotypes hétérozygotes. Les deux autres loci (TCM4 et TCM6) témoignent d'un déficit en hétérozygote. Cependant, les valeurs de P à tous les loci sont inférieures à 0,001 ce qui indique des déviations significatives par rapport au modèle de Hardy-Weinberg (Tableau XIII). L'analyse des moyennes montrent que globalement, sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg, la population de *T. congolense* forêt présente un excès significatif en hétérozygote avec un F_{IS} négatif (Figure 22).

Tableau XIII: Hétérozygoties et tests d'Equilibre de Hardy-Weinberg par locus et par population

Loci	TCS			TCF		
	H_o	H_e	HW	H_o	H_e	HW
TCM2	0,545	0,901	***	0,950	0,814	***
TCM3	0,818	0,855	***	0,850	0,729	***
TCM4	0,818	0,884	*	0,800	0,843	***
TCM6	0,636	0,897	***	0,850	0,859	***
TCM7	0,455	0,843	***	0,550	0,696	***
Moyennes	0,655	0,876	***	0,800	0,788	***

H_o : hétérozygoties observées ; H_e : hétérozygoties attendues ; HW : significativité du test d'Hardy-Weinberg ; * : p-value entre 0,05 et 0,01 ; ** : p-value entre 0,01 et 0,001 ; *** : p-value inférieure à 0,00 ; TCF : *Trypanosoma congolense* forêt ; TCS : *Trypanosoma congolense* savane.

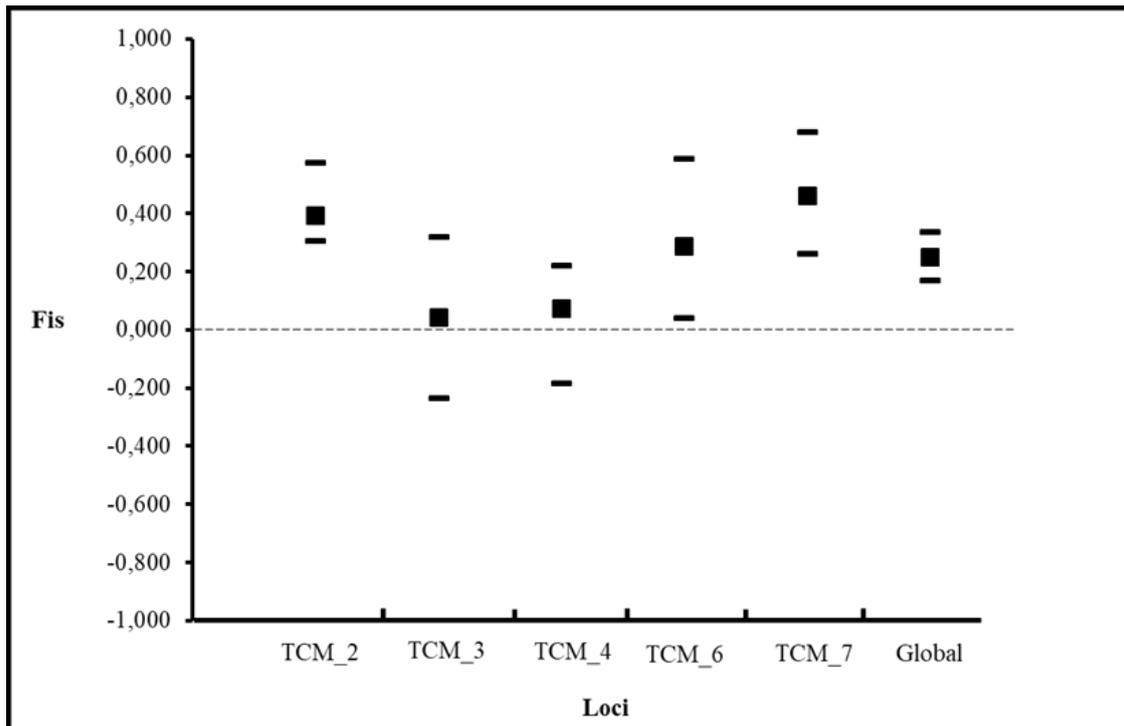


Figure 21 : Estimation du F_{IS} par locus et sur l'ensemble des loci, intervalles de confiance (95 %) pour la population de *T. congolense* savane.

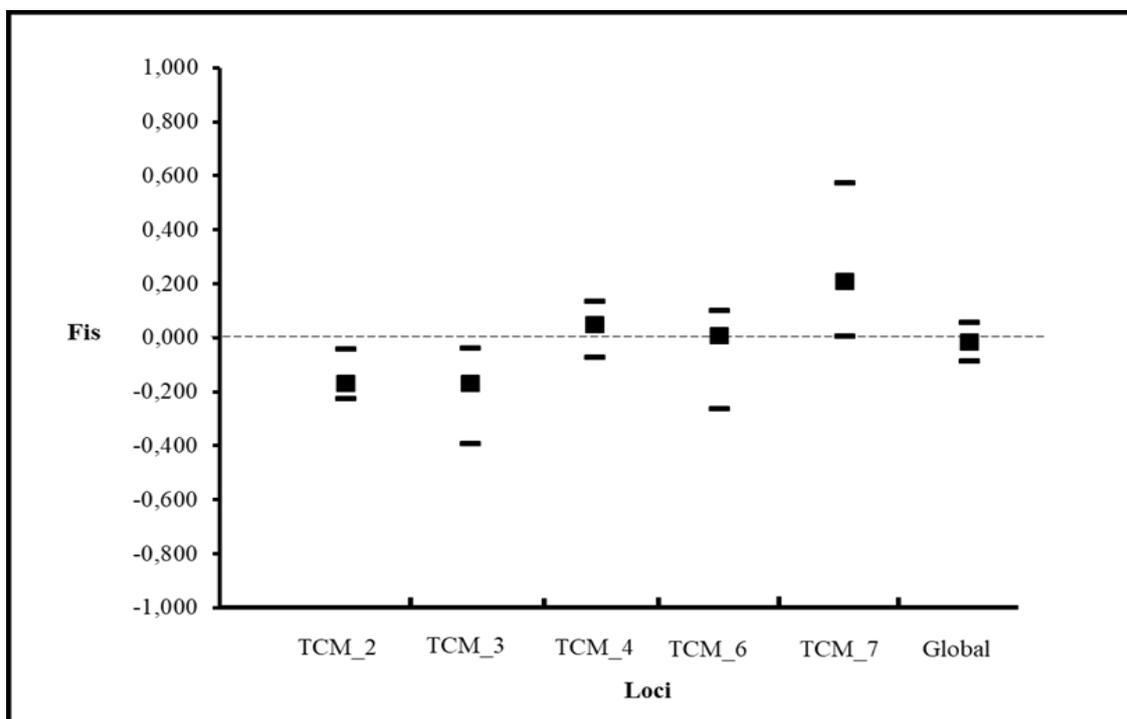


Figure 22 : Estimation du F_{IS} par locus et sur l'ensemble des loci, intervalles de confiance (95%) pour la population de *T. congolense* Forêt.

L'étude du déséquilibre de liaison a permis de tester l'association entre les 5 loci à l'intérieur des populations de *T. congolense* forêt et *T. congolense* savane.

Dans la population de *T. congolense* savane, dix (10) combinaisons possibles ($10 = 5(5-1)/2$) ont été effectuées entre les loci. Les 10 combinaisons ont montré un déséquilibre de liaison significatif au seuil de 5 %, entre les loci (Tableau XIV). Cela traduit une forte liaison entre les paires de loci.

Tableau XIV: Analyse du déséquilibre de liaison entre marqueurs pour la population de *T. congolense* savane

Tests 2 à 2	r	X^2	Ddl	Valeur p
TCM2 X TCM3	0,54	193	88	0,0001***
TCM2 X TCM4	0,52	240,91	121	0,0001***
TCM2 X TCM6	0,50	301,69	132	0,0001***
TCM2 X TCM7	0,57	241,80	88	0,0001***
TCM3 X TCM4	0,52	136,72	88	0,0007***
TCM3 X TCM6	0,49	174,51	96	0,0001***
TCM3 X TCM7	0,51	140,68	64	0,0001***
TCM4 X TCM6	0,58	258,51	132	0,0001***
TCM4 X TCM6	0,43	174,51	88	0,0001***
TCM6 X TCM7	0,50	236,25	96	0,0001***

r : coefficient de corrélation - X^2 : Constante de Khi carré – *ddl* : degré de liberté – *p* : probabilité associée à la statistique du Khi deux - *** : déséquilibre hautement significatif (100 % des tests d'association sont significatifs)

L'analyse du déséquilibre de liaison chez la population de *T. congolense* forêt a révélé que parmi dix (10) combinaisons possibles entre les loci, 4 paires de loci ont été en déséquilibre d'association significatif ($P < 0,001$). Ce qui signifie qu'il y a une association non aléatoire entre les allèles de ces loci. Pour les autres combinaisons, aucun déséquilibre d'association n'a été trouvé entre les marqueurs ($P > 0,05$). Ces loci sont donc statistiquement éloignés les uns des autres (Tableau XV).

Tableau XV: Analyse du déséquilibre de liaison entre marqueurs pour la population de *T. congolense* type forêt

Tests 2 à 2	r	X^2	ddl	Valeur p
TCM2 X TCM3	0,26	42,49	36	0,2114 ^{ns}
TCM2 X TCM4	0,21	76,84	78	0,5158 ^{ns}
TCM2 X TCM6	0,22	93,31	78	0,1100 ^{ns}
TCM2 X TCM7	0,27	87,53	48	0,0004 ^{***}
TCM3 X TCM4	0,19	79,75	78	0,4237 ^{ns}
TCM3 X TCM6	0,18	67,56	78	0,7946 ^{ns}
TCM3 X TCM7	0,44	148,60	48	0,0001 ^{***}
TCM4 X TCM6	0,49	353,35	169	0,0001 ^{***}
TCM4 X TCM7	0,16	120	104	0,1349 ^{ns}
TCM6 X TCM7	0,25	198,23	104	0,0001 ^{***}

r : coefficient de corrélation, X^2 : Constante de Khi carré, *ddl* : degré de liberté, *p* : probabilité associée à la statistique du Khi deux, ^{***} : déséquilibre hautement significatif, ^{ns} : déséquilibre non significatif.

3.1.3.2. Relation phylogénétique entre les individus du complexe *T. congolense*

Pour déterminer la structuration génétique des populations de *T. congolense* forêt et *T. congolense* savane, les génotypes de ces différentes sous-espèces ont été utilisés pour la réalisation de dendogrammes de similarités. Les populations proviennent de différentes régions de la Côte d'Ivoire : Nord, Sud, Est, Ouest, Centre et Centre-Ouest.

La figure 23 représente le dendrogramme illustrant les liaisons génétiques entre les souches de *T. congolense* savane. L'analyse de ce dendrogramme montre 3 groupes, formés en fonction de la provenance géographique des souches. Le premier groupe est hétérogène et rassemble en majorité des souches provenant du Nord de la Côte d'Ivoire, une souche provenant de l'Est. Le second groupe est également hétérogène avec des souches provenant du Nord et une seule souche provenant du Sud. Le troisième groupe renferme uniquement les souches de la région du Nord de la Côte d'Ivoire.

La figure 24 représente le dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques entre les individus de la sous-espèce *T. congolense* forêt. Cette figure montre qu'il n'y a pas de subdivision en fonction de la provenance géographique. La distribution des génotypes est aléatoire.

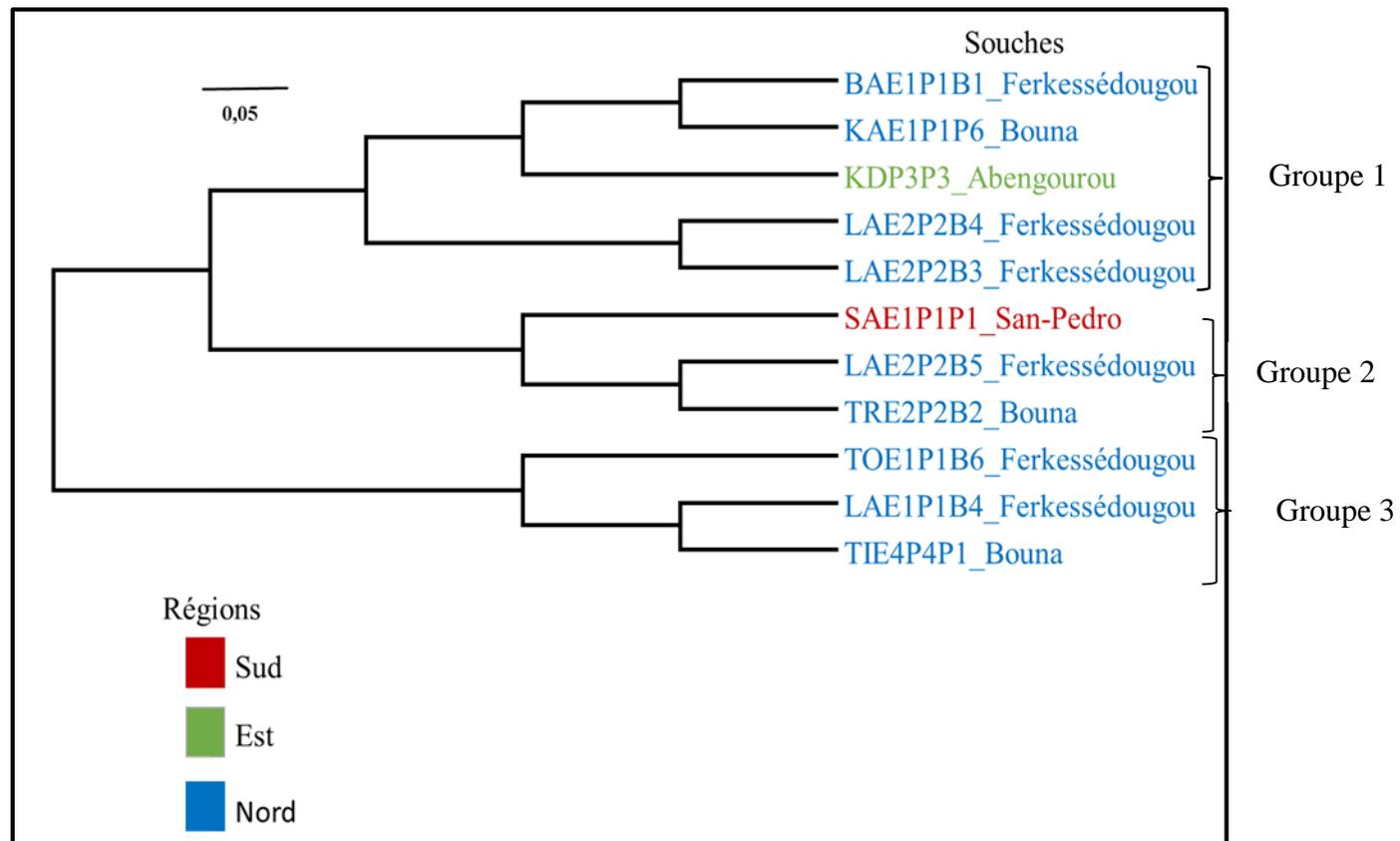


Figure 23 : Dendrogramme obtenu selon la méthode du NJTree sur la matrice de distance de Cavalli-Sforza et Edwards *T.congolense* savane.

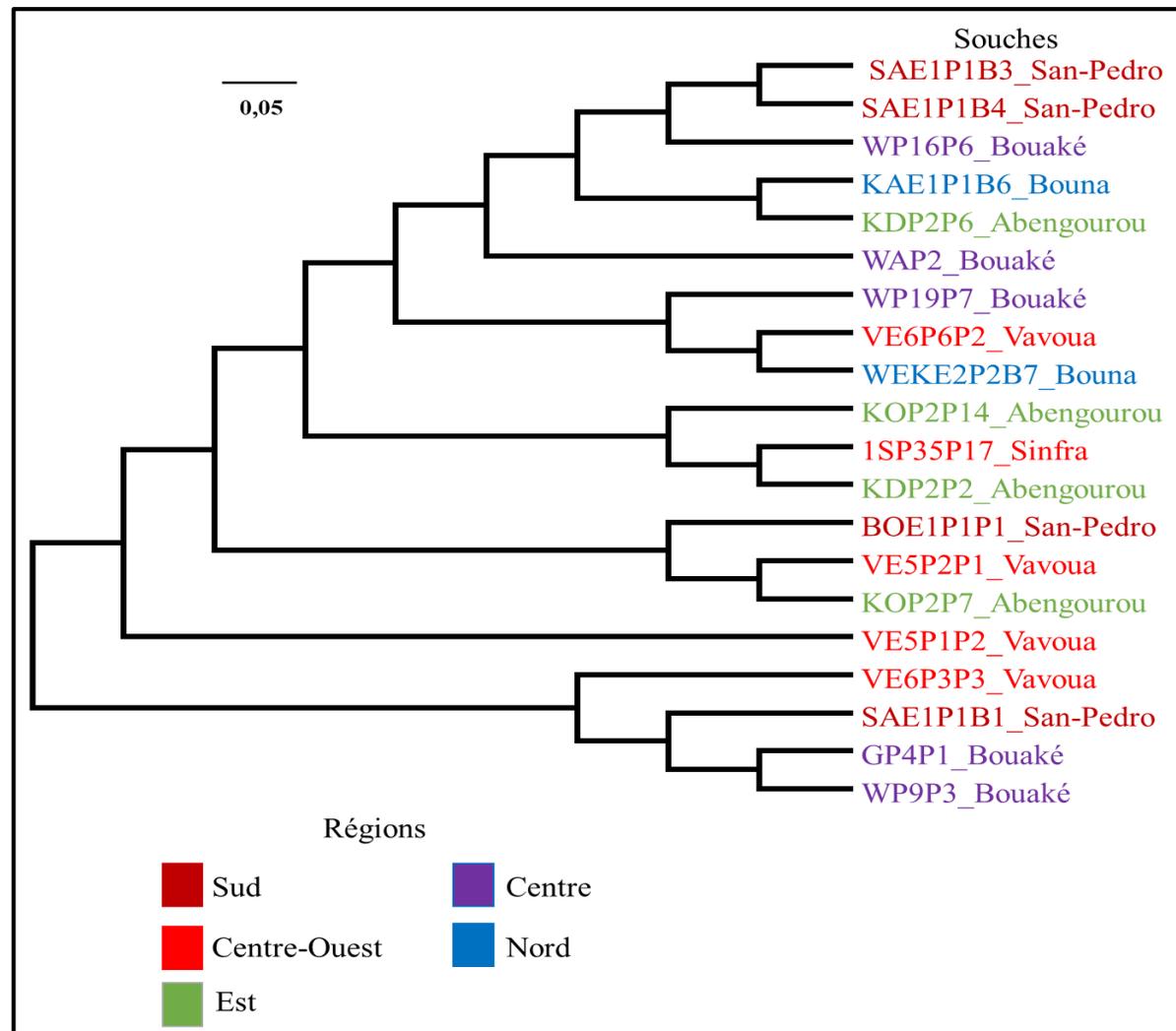


Figure 24 : Dendrogramme obtenu selon la méthode du NJTree sur la matrice de distance de Cavalli-Sforza et Edwards pour la population *T.congolense* forêt.

3.1.4. Corrélation entre la structuration génétique et la distribution géographique de *T. congolense* savane

3.1.4.1. Analyse de la dispersion spatial des individus

L'analyse en composante principale (ACP) indique une inertie globale de 52,6 % c'est à dire que les trois axes factoriels rendent compte de 52,6 % de la dispersion du nuage des points (Tableau XVI). A partir des résultats de l'ACP, on distingue nettement trois groupes (Figure 25). Le groupe 1 comprend deux individus provenant du Nord et un individu provenant de l'Est, le second groupe renferme uniquement des individus provenant du Nord et le troisième groupe comprend 5 individus provenant du Nord et un individu provenant du Sud.

Tableau XVI: Contribution des trois premiers axes factoriels à l'inertie totale en PCoA de la population *T.congolense* savane

Axes factoriels	Pourcentage d'inertie (%)	Pourcentage cumulé (%)
1	21,99	21,99
2	16,25	38,24
3	14,36	52,6

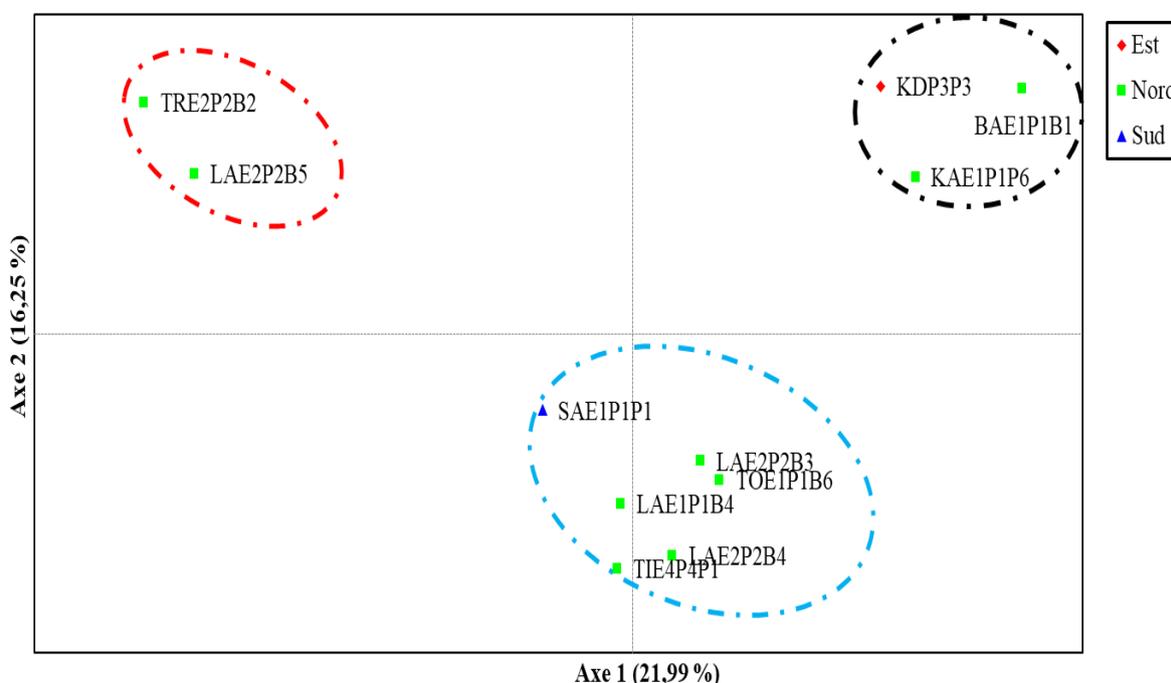


Figure 25: Analyse en composantes principales de la population de *T. congolense* type savane.

Au niveau de la population *T. congolense* forêt, l'inertie globale est de 48,61 % (Tableau XVII). L'analyse de la repartition des individus montre une distribution hétérogène des génotypes et aucun groupe ne se distingue (Figure 26).

Tableau XVII: Contribution des trois premiers axes factoriels à l'inertie totale en ACP de la population *T.congolense* forêt.

Axes factorielles	Pourcentage d'inertie	Pourcentage cumulé
1	24,66	24,66
2	13,4	38,06
3	10,55	48,61

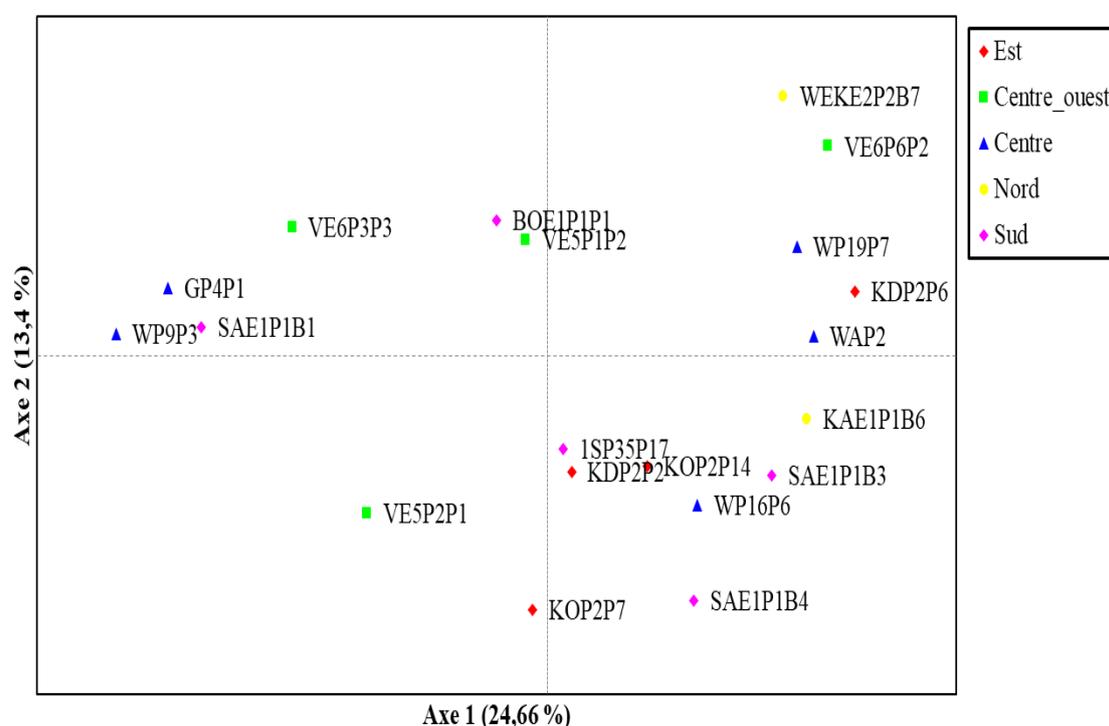


Figure 26: Analyse en composantes principales de la population de *T.congolense* type forêt

3.1.4.2. Isolement par la distance

L'estimation de la corrélation entre la matrice de distances géographiques et les distances génétiques réalisée par le test de Mantel ($P = 0,060$), montre un effet non significatif de la distance géographique sur les distances génétiques entre les populations de *T. congolense* savane. Cette corrélation représentée par la figure 27, montre une faible pente de la droite Y (distance génétique) en fonction de X (distance géographique) estimée à 0,0037 et un coefficient de détermination $R^2 = 0,0473$ indiquant une absence d'isolement par la distance.

Pour la population de *T. congolense* forêt, le test de Mantel a été également non significatif ($P = 0,070$). On observe une faible pente de la droite Y (distance génétique) en fonction de X (distance géographique) estimée à 0,0045 et un coefficient de détermination $R^2 = 0,0509$ (Figure 28). Il n'y a donc pas de corrélation entre les distances géographiques et les distances génétiques.

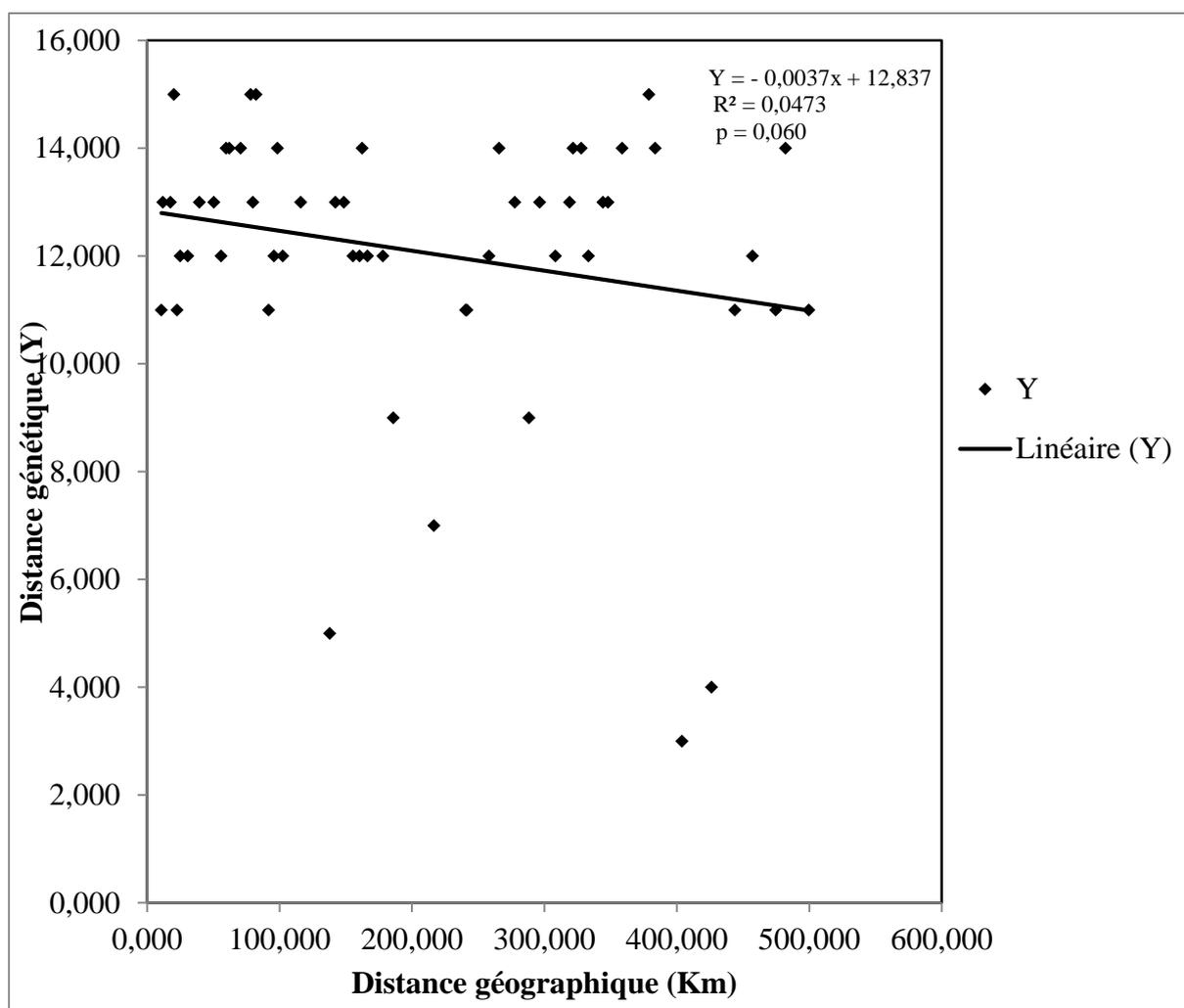


Figure 27: Représentation de l'isolement par la distance entre les individus de *T. congolense* savane

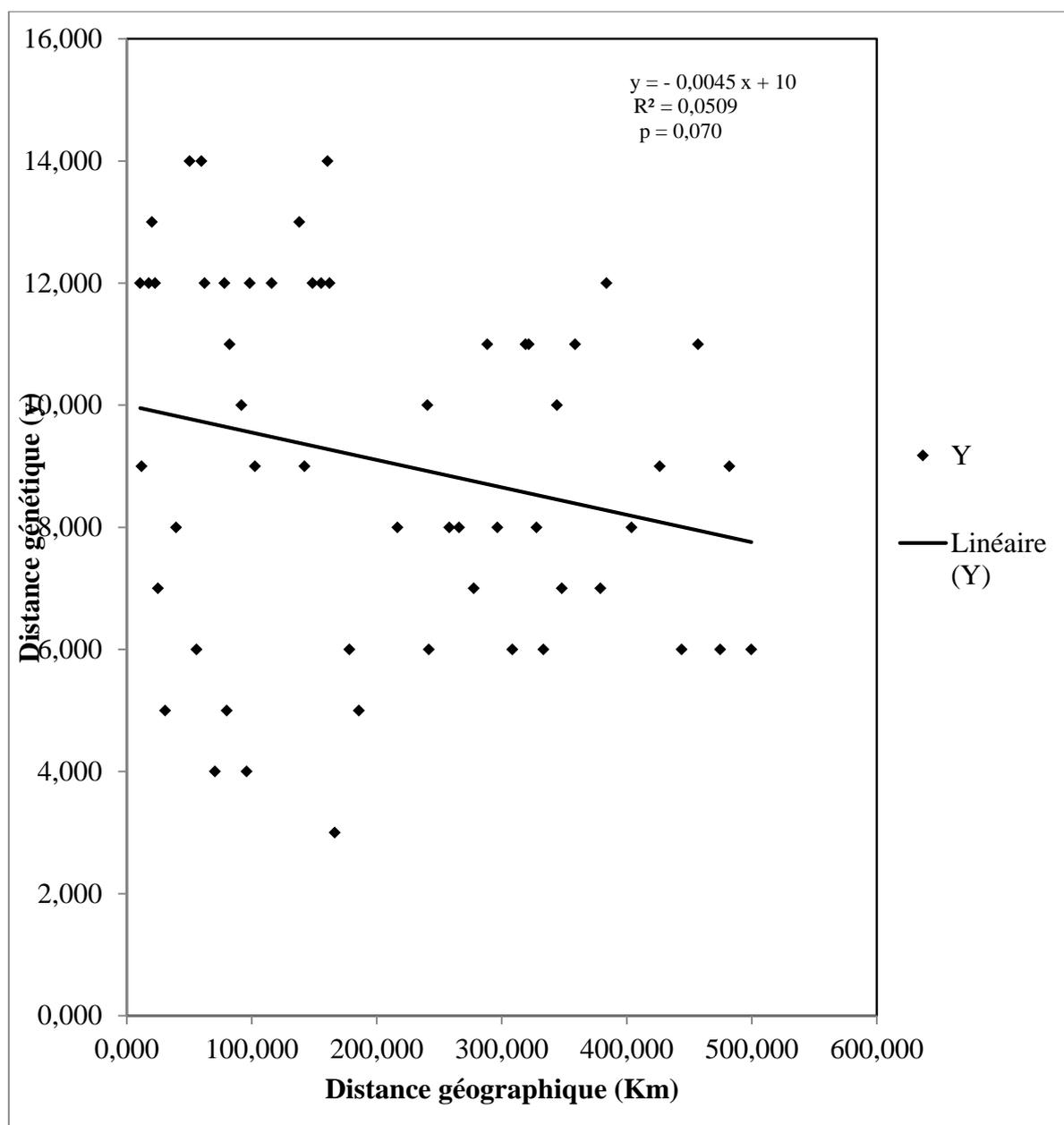


Figure 28 : Représentation de l'isolement par la distance entre les individus de *T. congolense* forêt.

3.2. Discussion

Un prérequis pour lutter efficacement contre la TAA en Côte d'Ivoire est de connaître la distribution géographique de cette parasitose dans les différentes régions. Pour ce faire, nous avons déterminé les prévalences sérologiques, parasitologiques et moléculaires de la TAA chez les bovins et les porcs de chaque département prospecté.

Le test sérologique CATT utilisé a initialement été conçu pour le diagnostic de *T. brucei gambiense*, et a ensuite été adapté à la détection de *T. evansi* (Desquemes *et al.*, 2022). Cependant, il a déjà été utilisé dans le cadre du diagnostic des trypanosomes d'animaux chez des bovins et des porcs au Nigéria (Karshima *et al.*, 2016) et au Sudan (Mossad *et al.*, 2020). Ce test a également été utilisé pour le diagnostic des trypanosomes d'animaux chez les ânes au Soudan par Elata *et al.* (2020). Dans cette étude, les séroprévalences globales obtenues chez les bovins et chez les porcs indiquent que les animaux testés sont porteurs d'anticorps dirigés contre les trypanosomes, sans toutefois traduire l'existence d'une infection active. En effet, le test CATT, est basé sur la recherche d'anticorps et ne permet pas de distinguer une infection passée d'une infection active (Toukara, 2021). Par ailleurs, les agglutinations observées en cas de positivité du test pourraient résulter de réactions croisées avec d'autres parasites, ou de la persistance d'anticorps durant plusieurs mois, voir plusieurs années après traitement du sujet (Nzoumbou-Boko, 2013). Cela est révélé dans cette étude par la spécificité calculée qui est très faible, comparée à la sensibilité. La séroprévalence globale observée chez les bovins était plus élevée que celle obtenue chez les porcins. Ce résultat pourrait signifier qu'il y a plus de contact bovins/trypanosomes que porcins/trypanosomes. En effet, la majorité des bovins testés proviennent de la région des savanes qui est la principale zone d'élevage et où la trypanosomose animale est considérée comme la principale maladie vectorielle (Djakaridja *et al.*, 2014 ; Koffi *et al.*, 2016). Cependant, les prévalences sérologiques chez les bovins pourraient être surestimées par le fait que ces animaux sont traités régulièrement aux trypanocides. Ces traitements fréquents, pourrait augmenter le taux de détection de la signature sérologique des trypanosomes par les tests sérologiques. Aux niveaux des départements, les différentes séroprévalences observées indiquent qu'il existe un contact trypanosomes/animal domestique d'importance variable dans chacune de ces zones. Les contacts les plus importants ont lieu dans le Nord du pays à Ferkessedougou et Bouna qui sont des foyers historiques de la THA. Cette région héberge 90 % du cheptel bovin ivoirien et fourni l'essentiel de la viande rouge consommée par les populations (Koné & Atindehou, 2008). On observe également des contacts importants dans l'Ouest à Danané et guiglo et le Centre-Ouest à Bonon et Sinfra qui sont des

foyers hypoendémiques de THA, ou existe également des élevages bovins et porcins (N'Djetchi *et al.*, 2017). Les contacts les moins importants ont été observés dans le Sud-Ouest à Sassandra et San-Pédro qui sont des zones qui n'ont pas connues d'épidémies aussi bien de THA que de TAA.

Les examens parasitologiques indiquent que de manière générale, la TAA existe dans toutes les régions prospectées. Ce résultat est corroboré par plusieurs études antérieures qui ont mis en évidence l'infection trypanosomienne chez les animaux domestiques dans différentes régions de Côte d'Ivoire (Koffi *et al.*, 2014 ; N'Djetchi *et al.*, 2017 ; Yao *et al.*, 2020). Plusieurs auteurs ont également mis en évidence l'existence d'une transmission active de trypanosomes chez les animaux domestiques à partir des méthodes de diagnostic parasitologique. Simo *et al.* (2013) ont trouvé des infections aux trypanosomes chez les bovins, les caprins, les ovins et les porcins dans le foyer de Fontem au Cameroun. Birhanu *et al.*, 2015 ont par les méthodes parasitologiques détectés les trypanosomes chez les chameaux, les chevaux et les moutons en Ethiopie. Mulenga *et al.*, 2021 ont par ces mêmes techniques mis en évidences les trypanosomes chez des bovins en Zambie. Contrairement aux résultats sérologiques, les analyses parasitologiques montrent que les porcins sont plus infectés que les bovins. Cela serait dû à des différences dans les contacts hôte-vecteur associés à différentes pratiques d'élevage et/ou à une sensibilité différentielle de l'hôte à l'infection trypanosomienne. En effet, les porcins errent librement dans les zones plus humides et ombragées autour des villages ou le long des petites rivières et sont fortement exposés aux mouches tsé-tsé. De plus, les porcins ont déjà été décrits comme un hôte alimentaire préférentiel pour *Glossina palpalis palpalis*, présente dans les zones étudiées (N'Djetchi *et al.*, 2017). Tout comme les résultats sérologiques, les examens parasitologiques montrent que par localité, les prévalences d'infections les plus élevés ont été observé dans le Centre-Ouest à Bonon, Sinfra et Vavoua, dans l'Ouest à Guiglo ainsi qu'à l'Est à Abengourou.

La méthode de diagnostic parasitologique est reconnue comme la plus pratique sur le terrain et permet d'identifier de façon rapide les animaux dont les parasitémies sont de l'ordre de 300 à 700 trypanosomes par ml de sang. Dans notre étude, lorsque les résultats de la sérologie et la parasitologie ont été comparés au gold standard de la PCR, les résultats ont indiqué une augmentation de la sensibilité et de la spécificité avec l'utilisation de la parasitologie. Cette capacité des tests parasitologiques notamment la mAECT à déterminer correctement les cas infectés et non infectés par rapport à la sérologie, bien que n'ayant pas été défini pour les animaux, a aussi été rapportée par Mulenga *et al.* (2021) et Desquesnes *et al.* (2022). Courtois

et al. (2019), ont également utilisé la mAECT pour le diagnostic et la purification des trypanosomes d'animaux à partir des souris de laboratoire. Néanmoins, cette technique a le désavantage de ne pas déceler les cas de faibles parasitémies (Teheseen *et al.*, 2015). D'où les faibles taux d'infections obtenus dans cette étude en accord avec d'autres études réalisées en Côte d'Ivoire (Acapovi-Yao *et al.*, 2016) et dans la sous région (Nakayima *et al.*, 2012 ; Harouna *et al.*, 2017). Des analyses complémentaires se référant aux techniques de la PCR indiqueraient des prévalences plus élevées que celles décelées par les techniques parasitologiques (Tounkara, 2021). En effet, l'analyse moléculaire (PCR) a été décrite par plusieurs auteurs comme la technique la plus sensible pour le diagnostic et l'identification des trypanosomes (Takeet *et al.*, 2013 ; Tounkara, 2021). Cette technique de diagnostic serait capable de détecter des infections précoces dues aux trypanosomes comme l'attestent les résultats des travaux de Koffi *et al.* (2014) et ceux de N'Djetchi *et al.* (2017). De plus, la PCR a la capacité de différencier les espèces et sous-espèces de trypanosomes grâce à l'utilisation d'amorces spécifiques. Ces auteurs ont indiqué que cette méthode est considérée comme très fiable en termes de sensibilité et de spécificité dans le diagnostic et l'identification des trypanosomes, d'où son utilisation comme gold standard. Dans notre étude, les prévalences d'infections les plus élevées ont été obtenues à la PCR. Ce résultat indique que les prévalences d'infections peuvent être sous-estimées par l'utilisation seule des techniques de diagnostic sérologique et la microscopie tandis que les techniques moléculaires améliorent considérablement les prévalences apparentes. Des résultats similaires ont été obtenus par Hounyèmè *et al.* (2021) pour le diagnostic des trypanosomes chez des bovins et des porcs au Burkina-Faso et par Mulenga *et al.* (2021), qui ont observés des prévalences d'infections aux trypanosomes plus élevés à la PCR par rapport à la sérologie et la parasitologie, chez des bovins au Nigéria. Paguem *et al.*, 2019, pour le diagnostic des trypanosomes infectant les bovins dans les zones de savane sudano-sahélienne et guinéenne du Cameroun, ont également obtenus des prévalences d'infections aux trypanosomes plus élevées à la PCR comparées aux prévalences obtenues à la microscopie. Tout comme la parasitologie, l'analyse moléculaire a confirmé que la trypanosomose animale africaine sévit dans toutes les régions prospectées en Côte d'Ivoire. Les prévalences les plus élevées ont été observées à l'Ouest, dans les départements de Vavoua, Danané et guiglo, au Centre-Ouest à Bonon et Sinfra, au Nord du pays à Ferkessédougou et Bouna et à l'Est à Abengourou. En effet, l'Est était une région agricole formant ce que l'on a appelé la boucle du cacao. Avec les changements climatiques et l'appauvrissement des sols, la boucle du cacao s'est déplacée à l'Ouest et au Centre-ouest du pays, sous la poussée de flux migratoires de populations, aussi bien d'origine intérieure (Centre, Centre-Est, Nord),

qu'extérieure (pays de la sous-région) (Fauret *et al.*, 2018). L'augmentation exponentielle des populations dans ces régions a occasionnée la déforestation favorable à la prolifération de *Glossina palpalis palpalis*, une espèce de glossine au régime alimentaire éclectique et à forte capacité vectorielle (Fauret *et al.*, 2018). De nombreuses épidémies de THA se sont déclenchées dans ces régions dont les dernières dates des années 2000 (N'Djetchi *et al.*, 2017). Aujourd'hui encore, quelques cas de THA sont diagnostiqués passivement dans ces foyers (Koffi *et al.*, 2016). Selon Ravel *et al.*, 2007, la transmission des trypanosomes est très active dans ces zones où les mouches tsé-tsé sont encore présentes. La THA partageant le même vecteur que la TAA, les animaux domestiques de ces régions sont exposés à l'infection trypanosomienne.

Les fortes prévalences de la TAA observées dans la zone de savane au Nord pourraient se justifier par les fortes prévalences de glossines observées dans cette zone agropastorale (Acapovi-Yao *et al.*, 2013) où la TAA est considérée comme la principale maladie vectorielle (Djakaridja *et al.*, 2014 ; Acapovi-Yao *et al.*, 2016). En plus des glossines, les Tabanidés, vecteurs mécanique de la TAA, ont également été signalés dans cette zone (Acapovi-Yao *et al.*, 2016). Nos résultats tout comme les travaux d'Acapovi-Yao *et al.*, 2013 et 2016, Boka *et al.*, 2019, montrent que la TAA demeure une contrainte majeure au développement de l'élevage dans la zone agropastorale du Nord de la Côte d'Ivoire. La TAA est peu présente dans le sud du pays (Aboisso, San-Pédro, Sassandra). Cela pourrait être dû à l'anthropisation de cette région, peu propice à la vie glossinienne (Courtin *et al.*, 2009). Cependant, des études menées dans la métropole d'Abidjan par Acapovi-Yao *et al.*, (2013) ont montré que même si les glossines ont tendance à disparaître dès que les densités humaines augmentent, certaines espèces du groupe palpalis auquel appartiennent *G. p. palpalis* sont capables de s'adapter à l'environnement urbain et peri-urbain. En effet, cette espèce a déjà été collectée, au sud du site d'Abidjan dans la commune de Port-Bouët et décrite dans diverses capitales d'Afrique de l'Ouest en l'occurrence Bamako et Dakar (Acapovi-Yao *et al.*, 2013).

La caractérisation moléculaire des trypanosomes à l'aide de la PCR, a permis de détecter et d'identifier les espèces *T. brucei*, *T. congolense* et *T. vivax*. Des résultats similaires ont été obtenus par Koffi *et al.*, (2014) chez des bovins dans le Nord-Est à Bouna, par N'Djetchi *et al.*, 2017 à Bonon et Sinfra et par Yao *et al.* (2020) dans plusieurs départements au Nord du pays. Acapovi-Yao *et al.*, (2013) ont également obtenus des résultats similaires après avoir prospectés 13 départements de Côte d'Ivoire, dont Ferkessédougou et Bouna. Plusieurs études sur la distribution géographique de la TAA dans différentes régions d'Afrique ont également révélées la présence de ces trois espèces de trypanosomes notamment au Nigéria (De Gier *et al.*, 2020), en Ethiopie (Gelaye & Fesseha, 2020) et au Zimbabwe (Shereni *et al.*, 2021). Ces trypanosomes

ont également été identifier chez des bovins et des porcins au Burkina-Faso (Hounyèmè *et al.*, 2021). Sur l'ensemble des sites prospectés, l'espèce *T. brucei* a la prévalence la plus élevée, suivi de *T. congolense* type forêt, *T. vivax* et enfin *T. congolense* type savane. Ce résultat reflète l'importance des contacts entre les animaux domestiques et les glossines. Ces contacts ont lieu le plus souvent dans les zones humides, ombrageuses et au niveau des points d'eau favorables aux glossines en périphérie des villages. Les porcs et les bovins deviennent de ce fait les cibles potentielles des deux espèces de glossines, *G. tachinoides* et *G. p. palpalis* qui sont responsables de la transmission de *T. brucei* sur toute l'étendue du territoire ivoirien (Djakaridja *et al.*, 2014 ; Acapovi-Yao *et al.*, 2016). En outre, la faible pathogénicité de *T. brucei* qui ne nécessite pas un traitement systématique des animaux contribuerait à accroître la prévalence dans la zone d'étude. Des résultats similaires ont été obtenus par Shereni *et al.* (2021) pour le diagnostic des trypanosomes chez des animaux domestiques au Zimbabwe et par Hamill *et al.* (2013) qui ont investiguer les porcins comme réservoir animal potentiel de de trypanosomiase humaine et animale dans le nord de la Tanzanie. Cependant, nos résultats sont contraires à ceux de Hounyèmè *et al.* (2021) au Burkina-Faso dont les résultats ont montré une prédominance de l'espèce *T. vivax*. Cette différence peut s'expliquer par la diminution du nombre de glossines due aux changements environnementaux observés au Burkina-Faso. Le fait que l'étude de Houyèmè *et al.* (2021) ai eu lieu durant la saison sèche moins favorable aux glossines, suggère une transmission mécanique plus importante de *T. vivax*. Des résultats contraires ont également été obtenus par Marsela *et al.* (2020). Ces auteurs après une investigation des trypanosomes chez des bovins au Malawi ont montré que l'espèce *Trypanosoma congolense* était la plus repandue devant *T. vivax*. Le fait que la prospection ait eu lieu en saison des pluies, favorable à la prolifération des glossines et que la région prospectée abrite un parc national et une réserve faunistique expliquerait les résultats obtenus. En effet, dans ces conditions, le bétail est plus en contact avec les glossines qu'avec les vecteurs mécaniques. Les animaux s'infectent généralement lorsqu'ils sont mis en contact étroit avec les glossines aux traversées de rivières, aux points d'eau des villages ou dans d'autres habitats de mouches tsé-tsé dans les champs. *T. brucei* a été retrouvé dans toutes les régions prospectées de Côte d'Ivoire avec une prédominance dans le Nord, dans l'Ouest et le Centre-Ouest du pays. Ce résultat est similaire à ceux obtenus par Koffi *et al* 2014 et N'Djetchi *et al.* (2017). Cependant, Yao *et al.* (2020) ont montré une prédominance de *T. congolense* après une étude épidémiologique chez les bovins dans le Nord de la Côte d'Ivoire dont Ferkéssédougou. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la majorité des infections recensées provient de Korhogo, département drainé par les cours d'eau du bassin versant du fleuve Bandama. Ces cours d'eau sont bordés tout le long par

des galeries forestières, reconnues comme des lieux de développement privilégiés des glossines responsable de la transmission de *T. congolense* (Yao *et al.*, 2020). *T. congolense* type forêt est retrouvé dans toutes les régions prospectées, cependant avec des prévalences plus faibles. La présence de *T. congolense* type forêt dans la région nord du pays, supposée ne pas abriter ce parasite trouve son explication dans la proximité du parc de la Comoé qui présente toutes les caractéristiques (forêt galerie, cours d'eaux, faible densité humaine, etc.) d'un habitat favorable au développement de glossines en particulier les glossines riveraines du groupe palpalis responsables de la transmission de *T. congolense* type forêt (Djakaridja *et al.*, 2014). Une autre explication serait la transhumance du bétail. En effet, en période de saison sèche, les éleveurs font transhummer les bovins sur de longues distances vers les autres régions du pays à la recherche de pâturages et de points d'eau. La transhumance favorise le contact entre les bovins déjà affaiblis par les longues distances parcourues et les glossines principalement au niveau des points d'eau et des pâturages. Ce contact conduit à l'infection des animaux par les trypanosomes ; lesquels, à leur retour constituent alors des sources d'infection pour les autres animaux de leurs terroirs d'attache, par le biais des vecteurs mécaniques (Tabanidés et Stomoxes). La transhumance permettrait ainsi le brassage régulier de parasites entre les autres régions et le Nord du pays. Les résultats montrent également un taux d'infection à *T. congolense* type forêt plus élevé que le taux d'infection à *T. congolense* type savane (7,60 % pour *T. congolense* type forêt contre 2 % pour *T. congolense* type savane). Le faible taux d'infection à *T. congolense* savane observé est probablement dû au niveau de pathogénicité de cette sous-espèce de trypanosome. En effet, plusieurs études ont montré que l'infection à *T. congolense* type savane provoquait chez les animaux domestiques un syndrome sévère, qui conduisait inexorablement à la mort dans les quatre à sept semaines suivant l'infection, si aucun traitement n'est appliqué (Simo *et al.*, 2014). Motloang *et al.* (2014), dans leur étude sur la virulence de souches des sous espèces de *T. congolense* en Afrique du Sud, ont confirmé la virulence plus élevée de *T. congolense* type savane par rapport aux autres sous-espèces. *T. vivax* suivi de *T. congolense* type savane ont constitué les trypanosomes les moins répandus. Ces trypanosomes ont été retrouvés dans le Nord du pays ; ce qui rejoint les travaux de Acapovi-Yao *et al.* (2016) et Djakaradja *et al.* (2014). Ces auteurs ont aussi montré que *T. vivax* et *T. congolense* groupe savane sont des trypanosomes ordinairement rencontrés en zone soudanaise de Côte d'Ivoire où sévissent les glossines ainsi que les Tabanidés et les stomoxes responsables de la transmission mécanique de *T. vivax*. Ces deux espèces de trypanosomes ont été également mis en évidence par Weber *et al.*, (2019) chez des bovins rencontrés dans le Nord du Nigéria, région qui présente le même type de végétation que la région Nord ivoirienne. Contrairement à nos

résultats, Boka *et al.* (2019), après une étude épidémiologique sur la TAA chez les bovins dans le Nord de la Côte d'Ivoire, n'ont recensé que l'espèce *T. vivax* chez ces animaux. Cependant, la non-identification des autres espèces de trypanosome chez les bovins peut être due à la technique d'identification utilisée. En effet, Boka *et al.* (2019) ont utilisé les techniques parasitologiques pour le diagnostic des trypanosomes. Bien que spécifiques, ces techniques sont peu sensibles pour le diagnostic des infections actives du bétail par les trypanosomes, surtout lorsque les animaux sont en phase chronique d'infection.

Un panel de cinq marqueurs microsatellites a été utilisé pour l'étude de la diversité génétique des populations de *T. congolense* type savane et *T. congolense* type forêt. Ces populations représentent deux lignées distinctes (Tihon *et al.*, 2017). A ce titre, elles ont été analysées séparément. Le contenu en polymorphisme informatif (PIC) des loci a été très important, avec des valeurs moyennes supérieures à 0,50 pour les deux populations. On note également que le nombre d'allèles par population requis par locus (4 allèles) pour réduire l'erreur standard commise dans l'estimation des distances génétiques entre populations est largement dépassé dans cette étude. Ces marqueurs sont donc appropriés pour l'évaluation de la diversité et de la structuration génétique de nos populations (Singh *et al.*, 2015). Les populations ont présenté une importante variabilité des loci étudiés : un nombre moyen d'allèles important (10,2 allèles par loci pour *T. congolense* type savane et 11 allèles pour *T. congolense* type forêt) et un polymorphisme génétique marqué chez ces deux populations. Par ailleurs, ces estimations du nombre moyen d'allèles sont supérieures à celle rapportée dans les populations *T. congolense* au Cameroun (NA = 1,469) (Fogue *et al.*, 2017).

La question de savoir si les trypanosomes africains sont clonaux ou subissent des échanges génétiques a été débattue pendant de nombreuses années (Tibarenc & Ayala., 2012 ; Tihon *et al.*, 2017). En effet, pour les agents pathogènes microbiens, la détermination du mode de reproduction est particulièrement importante. En cas de reproduction sexuée, la sélection naturelle agit sur les gènes transférés en les maintenant dans le génome s'ils y apportent un avantage ou les élimine s'ils sont jugés inutiles (Weedall & Hall, 2015). Cependant, de nouvelles combinaisons de caractères tels que la résistance aux médicaments ou la virulence peuvent être générées, ce qui peut entraîner davantage de souches pathogènes et d'épidémies. *T. brucei brucei*, *T. b. rhodesiense* et *T. b. gambiense* type 2 étaient les seuls trypanosomes africains chez lesquels des échanges génétiques avaient été clairement démontrés expérimentalement (Peacock *et al.*, 2014 ; Ramirez & Llewellyn, 2014), tandis que *T. b. gambiense* type 1 s'est révélé être clonal (Koffi *et al.*, 2009). Chez le sous-genre nannomonas,

on a considéré que les espèces se développaient de façon clonale (Tibayrenc & Ayala., 2012 ; Tibayrenc & Ayala., 2018). Cependant, plusieurs travaux dont ceux de Morrison *et al.* (2009), Tihon *et al.* (2017) et Van Den Broeck *et al.* (2018), remettent en question ce mode de développement chez ces trypanosomes et sont en faveur d'un mode de reproduction sexué. Dans cette étude, les deux modes de reproductions ont été observés. Chez *T. congolense* type savane, des déviations importantes par rapport au modèle d'Hardy-Weinberg représentant un déficit en hétérozygotes avec une valeur moyenne du F_{IS} positive, ont été observées et suggèrent un mode de reproduction sexué. Ce résultat est en accord avec plusieurs études antérieures sur la génétique des populations fondées sur des microsatellites et des recherches en génomique des populations utilisant des analyses du génome entier. En effet, une diversité particulièrement élevée a été observée chez *T. congolense* type savane en Zambie, ce qui était dû à un échange génétique entre des parasites *T. congolense* type savane phylogénétiquement distincts (Nakamura *et al.*, 2021). Morrison *et al.* (2009) ont obtenu des résultats similaires pour des populations de *T. congolense* type savane de Gambie. Le déficit en hétérozygotie observé chez *T. congolense* savane peut être dû à l'effet Wahlund, c'est-à-dire à l'existence de sous-structurations en raison de l'existence de barrières reproductives entre les individus constitutifs de la population, ou à la divergence des fréquences alléliques concomitamment à la dérive génétique (Sambe, 2021 ; De Meeûs, 2021). Ces résultats sont en accord avec ceux de Morrison *et al.* (2009) qui par l'analyse de 84 isolats de *T. congolense* type savane à l'aide de sept marqueurs microsatellites, ont démontré qu'il existe la reproduction sexuée chez *T. congolense* type savane, bien qu'il ne soit pas obligatoire. Tihon *et al.* (2017) ont utilisé le séquençage du génome entier pour caractériser les SNP, indels, CNV et l'étendue de la diversité génétique dans 52 isolats naturels de *T. congolense* type savane provenant de diverses régions d'Afrique subsaharienne. Leurs résultats ont montré que la population *T. congolense* type savane de Zambie était particulièrement diversifiée et présentait une mosaïque d'ascendance haplotypique et de variabilité génétique. Ce qui indique que les parasites hybrides persistaient et se recombinaient au-delà de l'événement initial d'hybridation. En utilisant le séquençage du génome de *T. brucei* s.l, Sstrom *et al.* (2016) ont mis en évidence, l'existence de recombinaison génétique entre les *T. brucei* s.l et *T. brucei. brucei*. L'existence d'une reproduction sexuée a également été mise en évidence chez *T. brucei* après analyse des SNP chez des populations d'Afrique de l'Ouest et de l'Est (Kay *et al.*, 2022). Ces résultats remettent en question les vues traditionnelles de la biologie des populations de ces trypanosomes et indiquent que la reproduction sexuée peut être un processus relativement répandu chez *T. congolense* type savane.

L'analyse de la structure de la population de *Trypanosoma congolense* type forêt confirme l'existence de sous-structurations de la population puisque trois groupes s'individualisent. L'hypothèse d'une structuration géographique a été testée par l'analyse en composante principale (ACP) et le test de Mantel. Les résultats de l'ACP montrent la formation de trois groupes, l'un homogène et les deux autres hétérogènes. Cependant, la corrélation non significative et la faible pente entre la matrice de distance géographique et la matrice de distance génétique obtenue avec le test de mantel montrent que, ces groupes génétiques ne s'individualisent pas en fonction de la localisation géographique. Il n'y a donc aucune association entre la structuration génétique et la distribution géographique de *T. congolense* type savane. Ces résultats sont similaires à ceux de Kimenyi *et al.* (2021) qui, après une étude de structuration génétique de souches de *Trypanosoma congolense* provenant de deux zones écogéographiques différentes au Kenya, ont montré que les différentes souches ne se regroupaient pas en fonction de l'origine géographique. Des résultats contraires ont été obtenus par Van den Broeck *et al.* (2018). Dans leurs travaux sur des souches *T. congolense* type savane de plusieurs régions d'Afrique, ces auteurs ont montré que la structure de la population de *T. congolense* type savane suit fortement un modèle géographique. Une autre explication à la sous-structuration observée dans cette étude, serait que les différents groupes observés pourraient refléter les différences biologiques du parasite, par exemple la préférence des espèces vectrices (glossines, Tabanidae et Stomoxes) (Acapovi-Yao *et al.*, 2013). La sous-structuration peut également être due à une migration récente menant à des groupements qui ne se sont pas complètement homogènes (Van den Broeck *et al.*, 2018). En effet, l'étude épidémiologique a montré que *T. congolense* type savane, est majoritairement rencontré dans le Nord de la Côte d'Ivoire. Lorsqu'on fait la corrélation avec la composition des trois groupes qui sont formés en étude de structuration génétique, on constate que l'un est complètement homogène avec uniquement des souches provenant du Nord, et les deux autres groupes sont constitués en majorité de souches provenant du Nord, contenant chacun une seule souche provenant d'une autre région. Ce qui pourrait correspondre à la formation de groupements suite à des migrations ou à la transhumance des animaux. Cependant, des travaux supplémentaires sont nécessaires pour étudier ces possibilités, car cette étude ne comporte que deux individus ne provenant pas du Nord.

Des résultats contraires ont été obtenus pour la population de *T. congolense* type forêt, où un excès en hétérozygotes a été observé. La valeur moyenne du F_{IS} négative et le déséquilibre de liaison entre les paires de loci nous permettent de conclure en faveur d'une reproduction clonale de *T. congolense* forêt. Les résultats sont en accord avec la théorie de l'existence de modèle

d'évolution clonale des parasites avancée par Tibayrenc & Ayala, (2019). Cette théorie stipule que bien qu'il puisse exister une recombinaison génétique chez les parasites, ceux-ci se reproduisent fondamentalement de façon clonale (Tibayrenc & Ayala 2019). Plusieurs autres études corroborent les résultats de cette étude, dont ceux de Simo *et al.* (2014) qui ont obtenus des résultats similaires pour des populations de *T. congolense* type forêt au Cameroun. Différentes études chez d'autres parasites sont également en faveur de mode de reproduction clonale. Nous pouvons citer les travaux de Garcia *et al.* (2014), qui, par l'analyse génétique des populations de *T. vivax* en Afrique du Sud, soutient la thèse de la propagation clonale de ce parasite. Dans la même ligne de pensée, Duffy *et al.* (2013) soutiennent que *T.b. gambiense* groupe 1 est un organisme clonal qui subit une recombinaison sexuelle très rarement, voire pas du tout. Kato *et al.* (2016) après une analyse de marqueurs microsatellites d'isolats de *T.b. rhodesiense* dans un foyer en Ouganda, ont montré que ces populations se reproduisaient de façon clonale. Echodu *et al.* (2015) ont examiné le modèle de différenciation génétique des isolats de *T.b. brucei* en Ouganda et dans l'ouest du Kenya et sont en faveur d'une reproduction clonale de ces parasites. L'analyse du dendrogramme montre une absence de sous-structuration régionale et suggère des génotypes identiques ou génotypes étroitement apparentés circulant entre les différentes régions. Des niveaux similaires de différenciation génétique ont été rapportés dans les populations de *T. congolense* type forêt, dans la région du Fontem du Cameroun par Fogue *et al.* (2017). Toutefois, des résultats contraires ont été obtenus par Simo *et al.* 2014, qui ont montré une sous-structuration parfaite entre les populations de *T. congolense* type forêt de RDC et du Cameroun. Cette différence entre les résultats peut s'expliquer par la provenance de la population d'étude. En effet, la population *T. congolense* type forêt étudié par Fogue *et al.*, 2017 provenait d'une seule région, tandis que celle étudiée par Simo *et al.*, 2014 provenait de régions différentes.

L'analyse en composante principale (ACP) et le test de Mantel avec une corrélation non significative et une faible pente entre la matrice de distance géographique et la matrice de distance génétique, ont montré qu'aucun groupe génétique ne s'individualise en fonction de la localisation géographique. Il n'y a donc aucune association entre la structuration génétique et la distribution géographique de *T. congolense* type forêt. Cette absence d'association peut être due à la petite taille des populations ou au mode de reproduction clonale de la population. Ce résultat est en accord avec ceux de Fogue *et al.*, (2017), qui ont trouvé des résultats similaires. Des résultats contraires ont été obtenus par Nakayima *et al.* (2013) sur la structuration génétique de *T. vivax*, à l'aide d'échantillon provenant d'Afrique de l'Ouest et de Zambie et indiquent une

séparation distincte des génotypes de *T. vivax* d’Afrique de l’Ouest et de Zambie selon leurs origines géographiques. Cette distribution de génotypes obtenus dans la population *T. congolense* type forêt, indique la transmission de souches identiques dans ces zones infestées. Pour interrompre la transmission de la maladie dans ces zones, des stratégies de contrôle similaires pourraient être mises en œuvre avec l'utilisation des outils de contrôle identiques tels que des médicaments et des outils de lutte contre les vecteurs. Cependant, avec ces stratégies de contrôle généralisées, il existe un risque élevé de développement et de propagation de souches résistantes. Dans ce type de contexte, les opérations de contrôle doivent être suivies d'une caractérisation continue des isolats de trypanosomes afin de détecter précocement l'émergence de souches résistantes et plus pathogènes qui pourraient compromettre les efforts de contrôle.

CONCLUSION

L'étude de la distribution géographique des trypanosomoses animales en Côte d'Ivoire, a montré que ces infections sévissent dans toutes les régions prospectées. Cependant, on assiste à une prédominance dans le Nord, le Centre-Ouest, l'Est et l'Ouest du pays. On retrouve les trois espèces de trypanosomes *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma congolense* et *Trypanosoma vivax* chez les bovins et les porcins infectés avec une prédominance de l'espèce *T. brucei*. Les infections à *T. brucei* et *T. congolense* type forêt sont retrouvés dans toutes les régions mais dans des proportions plus faibles pour *T. congolense* type forêt. *T. vivax* et *T. congolense* type savane sont surtout retrouvés dans le nord de la Côte d'Ivoire.

Les résultats de l'analyse génétique des deux sous-espèces *T. congolense* type savane et *T. congolense* type forêt, ont révélé une importante diversité génétique au sein de ces populations, caractérisées par un polymorphisme observé à tous les loci et un nombre important d'allèle relevé par locus. Ces parasites utilisent une variété de stratégies de reproduction allant de la reproduction clonale à la reproduction sexuée selon la population et la situation épidémiologique. L'hypothèse de la clonalité s'est vérifiée uniquement pour *T. congolense* type forêt. En effet, un déséquilibre de liaison global de ce trypanosome ainsi qu'un excès d'hétérozygotes ont été observés. Chez *T. congolense* type savane, le déficit en hétérozygote observé fait penser à un mode de reproduction sexuée. L'analyse phylogénique a montré que *T. congolense* type savane regroupe trois groupes tandis que *T. congolense* forêt présente un seul groupe hétérogène. Aucune corrélation entre la structure géographique et la structure génétique des deux populations de *T. congolense* n'a été mise en évidence dans cette étude. Il n'y a pas une seule théorie de la reproduction chez *T. congolense*. En effet, même s'il est admis que ces parasites se reproduisent de façon clonal, plusieurs auteurs en accord avec nos travaux ont mis en évidence l'existence d'une reproduction sexuée chez *T. congolense*. Dans ce contexte, de nouveaux outils analytiques sont nécessaires pour modéliser la structure de ces populations d'organismes en se concentrant sur des populations non divisées dans l'espace et dans le temps et en utilisant des outils de séquençage de nouvelle génération pour étudier les différents schémas d'évolution.

A partir des conclusions de cette étude, nous envisageons explorer les thématiques suivantes :

- l'étude génétique de *Trypanosoma congolense* à l'aide d'échantillons plus exhaustifs, afin de mieux comprendre la structuration génétique de ce parasite ;
- étudier la structuration génétique de *T. brucei*, qui est le trypanosome le plus répandu en Côte d'Ivoire ;

- l'évaluation de la corrélation entre la diversité génétique des trypanosomes et la diversité de réponses à l'infection.

De cette étude, nous recommandons aux autorités politiques et vétérinaires d'élaborer des stratégies de contrôle de la TAA en tenant compte de :

- la distribution géographique des trypanosomes en Côte d'Ivoire ;
- le mode de reproduction des trypanosomes, qui définit le mode de propagation des génotypes responsables de traits physiopathologiques spécifiques tels que la résistance aux médicaments ou différentes manifestations cliniques ;

Nous leurs recommandons également de :

- sensibiliser les éleveurs à une franche collaboration avec les services vétérinaires dans le processus de lutte contre la TAA ;
- faire la promotion de l'élevage des animaux trypanotolérants qui du point de vue de l'entretien sanitaire sont moins coûteux.

RÉFÉRENCES

-
- Abdoulmoumini M., Dalida I., Lendzele S., Alexandre Michel N., Andre S., Bouba M. & Andre D. (2020). Bovine trypanosomiasis and vectors in Lom and Djerem Division of East-Cameroon. *African Journal of Biological Sciences*, 2(3): 20-29.
- Abo B., Kalakodio L. & Bakayoko M. (2017). Evaluation of the Biogas Production Potential by Anaerobic Digestion of Fermentable Agricultural Residues in Côte d'Ivoire. *International Journal of Waste Resources* 7(4): 1-6.
- Abro Z., Kassie M., Muriithi B., Okal M., Masiga D., Wanda G., Ouedraogo G., Abah S., Etienne N., Rock A., Philémon M., Yahaya A., Camara M., Olet P., Diarra B., Susana J., Garba A., Ajakaiye J., Kinani J., Mohamed A., Nonga H., Daffa J., Gidudu A. & Chilongo K. (2021). The potential economic benefits of controlling trypanosomiasis using waterbuck repellent blend in sub-Saharan Africa. *Plos one*, 16(7): 1-15.
- Acapovi-Yao, G., Allou K., Mavoungou J., Zoh D., Dia M. & N'goran K. (2013). Distribution géographique et infection de *Glossina palpalis palpalis* (Diptera, Glossinidae) par les trypanosomes dans des reliques forestières de la ville d'Abidjan-Côte d'Ivoire. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 11(1): 37-42.
- Acapovi-Yao G., Cissé B., Mavoungou J., Kohagne T. & Coulibaly N. (2013). Situation de la trypanosomose bovine dans les principales régions d'élevage au Nord de la Côte d'Ivoire après la crise socio - militaire. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 11(1): 17-22.
- Acapovi-Yao G., Cissé B., Zinga K. & Mavoungou J. (2016). Infections trypanosomiennes chez les bovins dans des élevages de différents départements en Côte d'Ivoire. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 167(9-10): 289-295.
- Acapovi-Yao G., Kohagne L., Tra B.T.D. & Mavoungou J. (2017). Dynamique et dispersion spatiale des Tabanidae dans différents faciès écologiques de Korhogo en Côte d'Ivoire. *Entomologie Faunistique-Faunistic Entomology*, 70: 13-22.
- Acapovi-Yao G., Zoh D., Tra B.T.D. & Mavoungou J. (2015). Impact des filets imprégnés de deltaméthrine sur les populations de glossines au Parc zoologique d'Abidjan et à l'Université Nangui Abrogoua. *Agronomie Africaine*, 27(2): 145-153.
- Allaer F. (2017). Différenciation d'espèces cryptiques dans le genre *Afzelia* Smith (Leguminosae-Detarioideae). Master en bioingénieur : gestion des forêts et des espaces naturels. Université de Liège, Liège, Belgique, 51p.

-
- Allou K., Acapovi-Yao G., Mavoungou J.F. & Koumba C.Z. (2015). Structuration génétique de trois populations de *Glossina palpalis palpalis* et impact de la peinture insecticide inesfly™ 5 A IGR NG dans la lutte contre ces vecteurs à Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2): 1025-1037.
- Alzaylaee H., Collins R., Rinaldi G., Shechonge A., Ngatunga B., Morgan E. & Genner M. (2020). *Schistosoma* species detection by environmental DNA assays in African freshwaters. *PLoS neglected tropical diseases*, 14(3): 1-19.
- Anonyme 1. (2014). Recensement général de la population et de l'habitat en Côte d'Ivoire (RGPH-CI). 49 p.
- Assefa A. & Shibeshi W. (2018). Drug resistance in African animal trypanosomes: A review. *African Journal of Microbiology Research*, 12(17): 380-386.
- Auty H., Torr S., Michael T., Jayaraman S. & Morrison L. (2015). Cattle trypanosomiasis: the diversity of trypanosomes and implications for disease epidemiology and control. *Revue Scientifique et Technique*, 34(2): 587-98.
- Ayed R., Ennouri K. & Rebai A. (2018). Involvement of SNP marker located on the Calcium binding protein gene in adaptive traits and organoleptic performances of the olive tree. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(1): 328-343.
- Azokou A, Achi Y.L, Koné M.W. (2016). Lutte contre les tiques du bétail en Côte d'Ivoire par des méthodes traditionnelles. *Livestock Research for Rural Development*, 28(4): 1-10.
- Badran N. (2018). Un nouvel algorithme bioinformatique pour retrouver la relation entre la phylogénie et la phylogéographie des espèces. Maitrise en informatique. Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada, 148 p.
- Belalia N. (2019). Utilisation de marqueurs génétiques pour l'étude de la diversité génétique du maïs du sud Algérien. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger, Algérie, 181p.
- Bemba I., Bamou R., Lenga A., Okoko A., Awono-Ambene P. & Antonio-Nkondjio C. (2022). Review of the Situation of Human African Trypanosomiasis in the Republic of Congo From the 1950s to 2020. *Journal of Medical Entomology*, 20(10): 1-9.

-
- Bengaly Z., Vitouley S., Somda M., Zongo A., Têko-Agbo A., Cecchi G., Adam Y., Sidibé I., Bayala B., Belem A., Van Den Abbeele J. & Delespaux V. (2018). Drug quality analysis of isometamidium chloride hydrochloride and diminazene diaceturate used for the treatment of African animal trypanosomosis in West Africa. *BMC Veterinary Research*, 14(1): 1-8.
- Berté D., De Meeûs T., Kaba D., Séré M., Djohan V., Courtin F., N'Djetchi M., Koffi M., Jamonneau V., Bi T., Solano P., Kouakou N. & Ravel S. (2019). Population genetics of *Glossina palpalis palpalis* in sleeping sickness foci of Côte d'Ivoire before and after vector control. *Infection, Genetics and Evolution*, 75: 1-11.
- Biteau N., Asencio C., Izotte J., Rousseau B., Fèvre M., Pillay D. & Baltz T. (2016). *Trypanosoma brucei gambiense* infections in mice lead to tropism to the reproductive organs, and horizontal and vertical transmission. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(1): 1-15.
- Birhanu H., Fikru R., Said M., Kidane W., Gebrehiwot T., Hagos A., Alemu T., Dawit T., Berkvens D., Goddeeris B. & Büscher P. (2015). Epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* in domestic animals from selected districts of Tigray and Afar regions, Northern Ethiopia. *Parasites Vectors* 8(212): 1-11.
- Boichard D., Grohs C., Danchin-Burge C. & Capitan A. (2016). Les anomalies génétiques: définition, origine, transmission et évolution, mode d'action. *INRA Productions Animales*, 29(5): 297-306.
- Boka O.M., Boka J.E., Yapi G.Y., Traoré S.I. & Kouamé K.E. (2019). Epidémiologie de la trypanosomose animale africaine chez les bovins dans le département du Korhogo (Côte d'Ivoire). *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 72(2): 83-89.
- Bonnin T. & Lombard J. (2019). « Situer l'analyse phylogénétique entre les sciences historiques et expérimentales ». *Philosophia Scientiæ*, 23(2): 131-148.
- Botero-Castro F., Tilak M., Justy F., Catzefflis F., Delsuc F. & Douzery E. (2013). Next-generation sequencing and phylogenetic signal of complete mitochondrial genomes for resolving the evolutionary history of leaf-nosed bats (Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(3): 728-739.

-
- Büscher P., Gonzatti M., Hébert L., Inoue N., Pascucci I., Schnauffer A. & Van Reet N. (2019). Equine trypanosomosis: enigmas and diagnostic challenges. *Parasites & vectors*, 12(1): 1-8.
- Caljon G., Van Reet N., De Trez C., Vermeersch M., Pérez-Morga D. & Van Den Abbeele J (2016). The Dermis as a Delivery Site of *Trypanosoma brucei* for Tsetse Flies. *PLoS Pathogens*, 12(7): 1-22.
- Capewell P., Cren-Travaillé C., Marchesi F., Johnston P., Clucas C., Benson R., Gorman T., Calvo-Alvarez E., Crouzols A., Jouvion G., Jamonneau V., Weir W., Stevenson M., O'Neill K., Cooper A., Swar N., Bucheton B., Ngoyi D., Garside P., Rotureau B. & MacLeod A. (2016). The skin is a significant but overlooked anatomical reservoir for vector-borne African trypanosomes. *ELife*, 5: 1-17.
- Capewell P., Veitch N., Turner C., Raper J., Berriman M., Hajduk M. & MacLeod A. (2011) Differences between *Trypanosoma brucei gambiense* groups 1 and 2 in their resistance to killing by trypanolytic factor 1. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 5(9): 1-12.
- Chantal I., Minet C. & Berthier D. (2021). In vitro cultivation of *Trypanosoma congolense* bloodstream forms: State of the art and advances. *Veterinary Parasitology*, 299: 1-15.
- Chaoui M. (2020). Contribution à l'étude du polymorphisme génétique par les marqueurs biochimique et moléculaires de quelques accessions de l'espèce tétraploïde *Aegilops truincialis* L. Mémoire de Master biotechnologie. Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, Oum El Bouaghi, Algérie, 61 p.
- Chartier C., Itard J., Morel P. & Troncy P. (2000). Précise de Parasitologie Vétérinaire Tropicale. Maison Alfort: France. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(6): 1219-1225.
- Collange J., Bellinghausen L., Chappé J., Saunder L. & Albert E. (2013). Stress perçu : à partir de quel seuil devient-il un facteur de risque pour les troubles anxiodépressifs ? *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 74(1): 7-15.
- Courtin F., Sidibé I., Rouamba J., Jamonneau V., Gouro A. & Solano P. (2009). Impacts des évolutions démographiques et climatiques sur la répartition spatiale des hommes, des tsétsés et des trypanosomoses en Afrique de l'Ouest. *Parasite*, 16(1): 3-10.
- Courtois P., Nabos P., Nzoumbou-Boko R., Reix C., Dauchy F., Daulouede S., Bringaud F., Robinson D.R. & Vincendeau P. (2019). Purification of extracellular trypanosomes,

- including African, from blood by anion-exchangers (Diethylaminoethyl-cellulose Columns). *Journal of Visualized Experiments*, 1(146): 1-11.
- Coustou V., Guegan F., Plazolles N. & Baltz T. (2010). Complete *invitro* life cycle of *Trypanosoma congolense*: development of genetic tools. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(3): 1-14.
- Cordon-Obras C., Rodriguez Y., Fernandez-Martinez A., Cano J., Ndong-Mabale N., Ncogo-Ada P. & Bart J. (2015). Molecular evidence of a *Trypanosoma brucei gambiense* sylvatic cycle in the Human African Trypanosomiasis foci of Equatorial Guinea. *Frontiers in microbiology*, 6: 1-8.
- Cuisance D. (1995). Les grandes endemies parasitaires à transmission Vectorielle. Master international sur les maladies parasitaires tropicales, département d'élevage et de médecine vétérinaire CIRAD-EMVT. Montpellier, France. 124 p.
- Cuisance D., Itard J., Solano P., Desquesnes M., Frézil J. & Authié E. (2003). Trypanosomoses. Méthodes de lutte. Editions Médicales Internationales Tec et Doc. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et Régions chaudes. Paris, France, 21p.
- Cuypers B., Van den Broeck F., Van Reet N., Meehan C., Cauchard J., Wilkes J. & Deborggraeve S. (2017). Genome-wide SNP analysis reveals distinct origins of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum*. *Genome biology and evolution*, 9(8): 1990-1997.
- Dagnogo F. (2022). Household Breeding of Sheep in the City of Korhogo: Characteristics of the Populations at the Origin of This New Practice. *Advances in Applied Sociology*, 12: 1-10.
- Dean S. (2021). Basic Biology of *Trypanosoma brucei* with Reference to the Development of Chemotherapies. *Current Pharmaceutical Design*, 27(14): 1650-1670.
- Deltour. (2004). Proposition d'enquêtes transversales sur la trypanosomose du bétail en adamaoua. Thèse de doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse, Toulouse, France, 199 p.
- De Gier J., Cecchi G., Paon, M., Dede P. & Zhao W. (2020). The continental atlas of tsetse and African animal trypanosomosis in Nigeria. *Acta Tropica*, 204(105): 1-29.
- De Meeûs T. (2021). Initiation à la génétique des populations naturelles : applications aux parasites et à leurs vecteurs. Editions IRD, 396 p.

-
- Desquesnes M., Gonzatti M., Sazmand A., Thévenon S., Bossard G., Boulangé A., Gimonneau G., Truc P., Herder S., Ravel S., Sereno D., Jamonneau V., Jittapalapong S., Jacquiet P., Solano P. & Berthier D. (2022). A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. *Parasites Vectors* 15(64): 1-24.
- Diniz-Filho J., Soares T., Lima J., Dobrovolski R., Landeiro V., Telles M., Rangel T. & Bini L. (2013). Mantel test in population genetics. *Genetics and molecular biology*, 36(4): 475-485.
- Djakaridja B., Yao K., Gragnon B., Acapovi-yao G., Mavoungou J. & N'goran K. (2014). Situation épidémiologique des hémoparasites des bovins dans deux zones d'élevage de la Côte d'Ivoire: cas des anciennes régions des Savanes et de la vallée du Bandama. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 165(9-10): 297-303.
- Djohan V., Kaba D., Rayaissé J., Salou E., Coulibaly B., Dofini F., Kouadio K., Solano P. & Menan H. (2015). Diversité spatio-temporelle des glossines le long du fleuve Comoé en Côte d'Ivoire. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 68(1): 39-44.
- Doucet J., Ovazza M. & Adam J. (1958). Tabanides de Côte d'Ivoire. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 33: 285-94.
- Duffy C.W., MacLean L., Sweeney L., Cooper A., Turner C.M.R., Tait A., Stenberg J., Morrison J.L. & MacLeod, A. (2013). Population genetics of *Trypanosoma brucei rhodesiense*: clonality and diversity within and between foci. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(11):1-11.
- Duforet-Frebourg N. (2014). Statistiques bayésiennes en génétique des populations : modèle à facteurs et processus gaussiens pour étudier la variation génétique neutre et adaptative. Thèse de doctorat statistique, Université de Grenoble, Grenoble, France, 175p.
- Edgar R. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5):1792-1797.
- Echodu R., Sstrom M., Bateta R., Murilla G., Okedi L., Aksoy S., Enyioha C., Enyaru J., Opiyo E., Gibson W. & Caccone, A. (2015). Genetic diversity and population structure of *Trypanosoma brucei* in Uganda: implications for the epidemiology of sleeping sickness and Nagana. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(2): 1-18.
- Elata A., Mossaad E., Satti R., Matar N., Yuma Ohari Y., Xuan X., Inoue N. & Suganuma K. (2020). Serological and molecular detection of selected hemoprotozoan parasites in

- donkeys in West Omdurman, Khartoum State, Sudan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 82(3): 286-293.
- Elhaig M., Selim A., Mahmoud M. & El-Gayar E. (2016). Molecular confirmation of *Trypanosoma evansi* and *Babesia bigemina* in cattle from lower Egypt. *Pakistan Veterinary Journal*, 36: 1-6.
- Essono P., Dechaume-Moncharmont F., Mavoungou J., Mba R., Duvallet G. & Bretagnolle F. (2015). Distribution and abundance of hematophagous flies (*Glossinidae*, *Stomoxys*, and *Tabanidae*) in two national parks of Gabon. *Parasite*, 22(23): 1-11.
- Fauret P., Coulibaly B., Ouattara A., Krouba D., Kouakou C., Berté D., Ta B.D., Adopo R., Gabé A., Adingra P., N'Dri L., Kouadio K., Djohan V., Jamonneau Vincent, Koffi M., Rayaisse JB., Gimonneau G., Kouakou L., Koffi J., Calas B., Assi-Kaudjhis J., Anoh P., Solano P., Kaba D. & Courtin F. (2018). Café-cacao de Côte d'Ivoire et Trypanosomiase Humaine Africaine (2CI-THA): un Atlas au service de l'élimination de la THA en Côte d'Ivoire. Editions IRD, 91p.
- Fetene E., Leta S., Regassa F. & Büscher P. (2021). Global distribution, host range and prevalence of *Trypanosoma vivax*: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & vectors*, 14(1):1-20.
- Fogue P., Njiokou F. & Simo G. (2017). Structure génétique de *Trypanosoma congolense* «type forestier» circulant chez les animaux domestiques et les glossines dans la région du Sud-Ouest du Cameroun. *Parasite*, 24(51): 1-14.
- Franco J., Cecchi G., Paone M., Diarra A., Grout L., Ebeja A., Simaro P., Zhao W. & Argaw D. (2022). The elimination of human African trypanosomiasis: Achievements in relation to WHO road map targets for 2020. *PLoS neglected tropical diseases*, 16(1): 1-19.
- Gaithuma A., Yamagishi J., Hayashida K., Kawai N., Namangala B., & Sugimoto C. (2020). Blood meal sources and bacterial microbiome diversity in wild-caught tsetse flies. *Scientific reports*, 10(1): 1-10.
- Galal L., Ajzenberg D., Hamidović A., Durieux M., Dardé M. & Mercier A. (2018). *Toxoplasma* and Africa: one parasite, two opposite population structures. *Trends in Parasitology*, 34(2): 140-154.
- Ganyo E.Y., Boampong J.N., Masiga D.K., Villinger J. & Turkson P.K. (2018). Haematology of N'Dama and West African Shorthorn cattle herds under natural *Trypanosoma vivax* challenge in Ghana. *F1000Research*, 7: 1-14.

-
- Garcia H.A., Rodrigues A.C., Rodrigues C.M., Bengaly Z., Minervino A.H., Riet-Correa F., Machado R.Z., Paiva F., Batista S.J., Neves L., Hamilton B.P. & Teixeira M.M. (2014). Microsatellite analysis supports clonal propagation and reduced divergence of *Trypanosoma vivax* from asymptomatic to fatally infected livestock in South America compared to West Africa. *Parasites & vectors*, 7(1): 1-13.
- Gelaye A. & Fesseha H. (2020). Bovine trypanosomiasis in Ethiopia: epidemiology, diagnosis and its economic impact-a review. *Open Access Journal of Biogenetic Science and Research*, 2(5): 1-10.
- Gibson W. (2015). Liaisons dangereuses: sexual recombination among pathogenic trypanosomes. *Research in microbiology*, 166(6): 459-466.
- Gitari J., Nzou S., Wamunyokoli F., Kinyeru E., Fujii Y., Kaneko S. & Mwau M. (2018). Leishmaniasis recidivans by *Leishmania tropica* in central rift valley region in Kenya. *International Journal of Infectious Diseases*, 74: 109-116.
- Govindaraj M., Vetriventhan M. & Srinivasan M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics research international*, 2015: 1-14p.
- Gupta A., Gangotia D. & Mani I. (2021). Bioinformatics Tools and Software. In *Advances in Bioinformatics*. Springer, Singapore, pp. 15-35.
- Hamidović A., Etougbéché J., Tonouhewa A., Galal L., Dobigny G., Houémènou G., Zoclanclounon H., Amagbégnon R., Laleye A., Fievet N., Piry S., Berthier K., Pena H., Dardé M. & Mercier A. (2021). A hotspot of *Toxoplasma gondii* Africa 1 lineage in Benin: How new genotypes from West Africa contribute to understand the parasite genetic diversity worldwide. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(2): 1-16.
- Hamill L.C., Kaare M.T., Welburn S.C. & Picozzi K. (2013). Domestic pigs as potential reservoirs of human and animal trypanosomiasis in Northern Tanzania. *Parasites & vectors*, 6(1): 1-7.
- Harouna M., Kone P., Adakal H., Haido A., Bengaly Z. & Souley B. (2017). Etude de la trypanosomose bovine dans les departements de Say et Torodi (Niger). *Agronomie Africaine*, 29(2): 115-124.
- Holmes P. (2014). First WHO meeting of stakeholders on elimination of *gambiense* Human African Trypanosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 8(10): 1-2.

-
- Holmes P. (2015). On the road to elimination of Rhodesiense human African trypanosomiasis: first WHO meeting of stakeholders. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 9(4): 1-3.
- Hounyèmè R.E., Kaboré J., Gimonneau G., Somda M.B., Salou E., Missihoum A.A., Bengaly Z., Jamonneau V. & Boulanger A. (2021). Molecular epidemiology of Animal African Trypanosomosis in southwest Burkina Faso. *bioRxiv*, 47(36): 1-11.
- Hordofa K. & Haile G. (2017). A review on epidemiological distribution, impacts and integrated control approach of tsetse fly. *Journal of Parasitology and Vector Biology*, 9(9): 122-131.
- Horn D. (2014). Antigenic variation in African trypanosomes. *Molecular and biochemical parasitology*, 195(2): 123-129.
- Ibrahim E., Elmahal M.G.E.M., Ahmed K.M. & Omer M. (2021). Second stage African Trypanosomiasis presented as Non Convulsive Status Epilepticus. *Authorea Preprints*, 5p.
- Jamonneau V., Truc P., Grébaud P., Herder S., Ravel S., Solano P. & De Meeus T. (2019). *Trypanosoma brucei gambiense* Group 2: the unusual suspect. *Trends Parasitol*, 35(12): 983-995.
- Joly V., Richebe P., Guignard B., Fletcher D., Maurette P., Sessler D. & Chauvin M. (2005). Remifentanil-induced postoperative hyperalgesia and its prevention with small-dose ketamine. *The journal of the American of Anesthesiology*, 103(1): 147-155.
- Kaba D., Djohan V., Berté D., Ta B.T.D., Selby R., Kouadio K. A. D. M., Coulibaly B., Traore G., Rayaisse J.B., Fauret P., Vincent Jamonneau V., Kouakou Lingue K., Phillipe Solano P., Torr S.J. & Courtin, F. (2021). Use of vector control to protect people from sleeping sickness in the focus of Bonon (Côte d'Ivoire). *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(6): 1-18.
- Kaboré J., Camara O., Koffi M., Sanou D., Ilboudo H., Sakandé H., Camara M., De Meeûs T., Ravel S., Beleme M., MacLeod A., Bucheton B., Jamonneau V. & Thévenon S. (2018). Differences in pathogenicity and virulence of *Trypanosoma brucei gambiense* field isolates in experimentally infected Balb/C mice. *Infection, Genetics and Evolution*, 63: 269-276.

-
- Karshima S.N., Lawal I.A., Bata S.I., Barde I.J, Adamu P.V., Salihu A., Dross P.N. & Obalisa A. (2016). Animal reservoirs of *Trypanosoma brucei gambiense* around the old Gboko sleeping sickness focus in Nigeria. *Journal of Parasitology and Vector Biology*, 8(5): 47-54.
- Katabazi A., Aliero A., Witto S., Odoki M. & Musinguzi S. (2021). Prevalence of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma vivax* in Lira District, Uganda. *BioMed Research international*, 2021: 1-7.
- Kato C.D., Alibu V.P., Nanteza A., Mugasa C.M. & Matovu E. (2016). Population genetic structure and temporal stability among *Trypanosoma brucei rhodesiense* isolates in Uganda. *Parasites & vectors*, 9(1): 1-8.
- Kay C., Peacock L., Williams T. & Gibson W. (2022). Signatures of hybridization in *Trypanosoma brucei*. *PLoS Pathogens*, 18(2): 1-23.
- Khadidja A. (2018). Etude de la variabilité génétique et de potentialité d'adaptation chez *Artemisia herba-alba* dans la steppe de l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Djillali liabes, Sidi Bel Abbès, Algérie, 142 P.
- Kimenyi N., Kimenyi K., Amugune N. & Getahun M. (2021). Genetic connectivity of trypanosomes between tsetse-infested and tsetse-free areas of Kenya. *Parasitology*, 149(3): 1-13.
- Koffi K., Soumahoro M-K., Boka O., Melki J., Ndri B., Nowakowski M., Touré O., Djaman A., N'Goran K. & Ronan J. (2021). Cross-sectional study on Traditional pig rearing practices and cysticercosis in the southern region of Côte d'Ivoire. *Research square*, 268 :1-16.
- Koffi M., De Meeûs T., Bucheton B., Solano P., Camara M., Kaba D., Cunny G., Ayala F.J. & Jamonneau V. (2009). Population genetics of *Trypanosoma brucei gambiense*, the agent of sleeping sickness in Western Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(1): 209-214.
- Koffi M., Kouadio K., Sokouri D., Wognin M. & N'Guetta A. (2014). Molecular characterization of trypanosomes isolated from naturally infected cattle in the "Pays Lobi" of Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 83(1): 7570-7578.
- Koffi M., N'Djetchi M., Ilboudo H., Kaba D., Coulibaly B., N'Gouan E., Kouakou L., Bucheton B., Solano P., Courtin F., Ehrhardt S. & Jamonneau V. (2016). A targeted door-

- to-door strategy for sleeping sickness detection in low-prevalence settings in Côte d'Ivoire. *Parasite*, 23(51): 1-6.
- Koné M., N'Gouan E., Kaba D., Koffi M., Kouakou L., N'Dri L., Kouamé M., Nanan V., Tapé G., Coulibaly B., Courtin F., Ahouty B., Djohan V., Bucheton B., Solano P., Büscher P., Lejon V. & Jamonneau V. (2020). The complex health seeking pathway of a human African trypanosomiasis patient in Côte d'Ivoire underlines the need of setting up passive surveillance systems. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(9): 1-14.
- Koné WM & Atindehou K K. (2008). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in traditional veterinary medicine in Northern Côte d'Ivoire (West Africa). *South African Journal of Botany*, 74(1) : 76-84.
- Kouadio K., Sokouri D., Koffi M., Konate I., Ahouty B., Koffi A. & N'Guetta S. (2014). Molecular Characterization and Prevalence of *Trypanosoma* Species in Cattle from a Northern Livestock Area in Côte d'Ivoire. *Journal of Veterinary Medicine*, 4(12): 314-321.
- Kouassi C., Khan D., Achille L., Omifolaji J. & Kebin Z. (2021). Forest Resources Depletion: An Ecological Model for Biodiversity Preservation and Conservation in Cote D'Ivoire, *Open Journal of Ecology*, 11 : 870-890.
- Kumar S., Stecher G. & Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology Evolution*. 33(7): 1870-1874.
- Küpper W., Staak C., Kröber T. & Späth J. (1990). Natural hosts of *Glossina tachinoides* (Diptera: Glossinidae) in northern Côte d'Ivoire. *Tropical Medicine and Parasitology: Official Organ of Deutsche Tropenmedizinische Gesellschaft and of Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ)*. *Europe PMC*, 41(2): 217-218.
- Kuriakose S., Onyilagha C., Singh R., Jia P. & Uzonna J. (2019). Diminazene aceturate (Berenil) downregulates *Trypanosoma congolense*-induced proinflammatory cytokine production by altering phosphorylation of MAPK and STAT proteins. *Immunologic research*, 67(1): 84-92.
- Lachtar M., Gachout S., Mzoughi S., Ben Smida B., Daly Y. & Bouajila M. (2017). Contribution à l'étude de la trypanosomose cameline dans le gouvernorat de Tataouine. *Bulletin zoosanitaire*, 14: 1-4.
- Lassmann T. (2020). Kalign 3: multiple sequence alignment of large datasets. *Bioinformatics*, 36(6): 1928-1929.

- Lord J., Hargrove J., Torr S. & Vale G. (2018). Climate change and African trypanosomiasis vector populations in Zimbabwe's Zambezi Valley: a mathematical modelling study. *PLoS medicine*, 15(10): 1-18.
- Majiwa P., Maina M., Waitumbi J., Mihok S. & Zweygarth E. (1993). *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*: molecular characterization of a new genotype from Tsavo, Kenya. *Parasitology*, 106 (2): 151-162.
- Majiwa P., Masake R., Nantulya V., Hamers R. & Mathyssens G. (1985). *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*: identification of two karyotype groups. *Embo Journal*, 4(12): 3307-3315.
- Marsela M., Hayashida K., Nakao R., Chatanga E., Gaithuma A., Naoko K., Musaya J., Sugimoto C. & Yamagishi J. (2020). Molecular identification of trypanosomes in cattle in Malawi using PCR methods and nanopore sequencing: epidemiological implications for the control of human and animal trypanosomiasis. *Parasite*, 27(46) : 1-10.
- Masiga K., Smith A., Hayes P., Bromidge T. & Gibson W. (1992). Sensitive detection of Trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *International Journal for Parasitology*, 22(7): 909-918.
- Maslov D., Opperdoes F., Kostygov A., Hashimi H., Lukeš J. & Yurchenko V. (2019). Recent advances in trypanosomatid research: genome organization, expression, metabolism, taxonomy and evolution. *Parasitology*, 146(1): 1-27.
- Matthews K., McCulloch R. & Morrison L. (2015). The within-host dynamics of African trypanosome infections. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1675): 1-10.
- Matthey-Doret R. & Whitlock M. (2019). Background selection and FST: consequences for detecting local adaptation. *Molecular ecology*, 28(17): 3902-3914.
- Mehlitz D., Molyneux D. (2020). The elimination of *Trypanosoma brucei gambiense*? Challenges of reservoir hosts and transmission cycles: Expect the unexpected. *Parasite Epidemiol Control*, 6: 1-11.
- Miller J., Delzell S., Concepción-Acevedo J., Boucher M. & Klingbeil M. (2020). A DNA polymerization-independent role for mitochondrial DNA polymerase I-like protein C in African trypanosomes. *Journal of cell science*, 133(9): 1-15.
- Millerioux Y. (2013). Etude fonctionnelle du métabolisme de l'acétyl-CoA chez *Trypanosoma brucei*. Thèse de doctorat. École doctorale Sciences de la vie et de la santé de Bordeaux, Bordeaux, France, 215p.

-
- Milmann L., Taguchi M., Siciliano S., Baumgarten J., Oliveira L., Valiati V., Goto M., Ott P. & Pastene L. (2021). New genetic evidences for distinct populations of the common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) in the Southern Hemisphere. *Polar Biology*, 44(8): 1575-1589.
- Morrison L., Tweedie A., Black A., Pinchbeck G., Christley R., Schoenefeld A., Hertz-Fowler C., MacLeod A., Turner C. & Tait A. (2009). Discovery of mating in the major African livestock pathogen *Trypanosoma congolense*. *PLoS One*, 4(5): 55-64.
- Moser D.R., Cook G.A., Diane E.O., Cheryl P.B., Melissa R.M. & Donelson L.E. (1989). Detection of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* subspecies by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *Parasitology*, 99: 57-66.
- Mossaad E., Ismail A., Ibrahim M., Musinguzi P., Angara T., Xuan X., Inoue N. & Suganuma K. (2020). Prevalence of different trypanosomes in livestock in Blue Nile and West Kordofan States, Sudan. *Acta Tropica*, 203(105): 302-308.
- Motloang M., Mans B., Latif A., Masumu J., Mans B. & Latif A. (2014). Virulence of *Trypanosoma congolense* strains isolated from cattle and African buffaloes (*Syncerus caffer*) in KwaZulu-Natal, South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 81(1): 1-7.
- Mounioko F., Mavoungou J., Koumba C., Engo P., Koumba A., Maroundou A. & M'batchi B. (2017). Etude préliminaire des vecteurs mécaniques des trypanosomes dans la localité de Campo et ses environs (sud-ouest du Cameroun). *Entomologie faunistique-Faunistic Entomology*, 70: 95-105.
- Mulenga G.M., Namangala B., Chilongo K., Mubamba C., Hayashida K., Henning L. & Gummow B. (2021). Challenges in the Diagnostic Performance of Parasitological and Molecular Tests in the Surveillance of African Trypanosomiasis in Eastern Zambia. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 6(68): 1-10.
- Mwamba W. & Malekani J. (2017). Epidémiologie de la trypanosomose animale africaine (TAA) à l'Ouest de la République Démocratique du Congo (RDC). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 5(2): 108-111.
- Nakamura Y., Hayashida K., Delesalle V., Qiu Y., Omori R., Simuunza M., Sugimoto C., Namangala B. & Yamagishi J. (2021). Genetic Diversity of African Trypanosomes in Tsetse Flies and Cattle from the Kafue Ecosystem. *Frontiers in veterinary science*, 8(5): 1-12.

-
- Nakayima J., Nakao R., Alhassan A., Hayashida K., Namangala B., Mahama C., Afakye K. & Sugimoto, C. (2013). Genetic diversity among *Trypanosoma (Duttonella) vivax* strains from Zambia and Ghana, based on cathepsin L-like gene. *Parasite*, 20(24): 1-4.
- Nakayima J., Nakao R., Alhassan A., Mahama C., Afakye K. & Sugimoto C. (2012). Molecular epidemiological studies on animal trypanosomiasis in Ghana. *Parasites & Vectors*, 5(1): 1-7.
- Naino J., Le Ru B., Capdevielle-Dulac C., Chardonnet F., Silvain J., Kaiser L. & Dupas S. (2020). La génétique des populations de la pyrale méditerranéenne du maïs (*Sesamia nonagrioides*) diffère entre les plantes sauvages et cultivées. *PLoS One*, 15(3): 1-11.
- Ndiaye M.R. (2018). Evolution phylogéographique et structure génétique des populations de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae), ravageur du maïs stocké en Afrique de l'ouest Université. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Animale Cheikh Anta DIOP de Dakar, Dakar, Sénégal. 178p
- N'Djetchi K.M. (2018). Diversité génétique de *Trypanosoma brucei* sensu lato chez les animaux domestiques et implication épidémiologique dans la transmission de la Trypanosomose Humaine Africaine (THA) dans les foyers du Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat, Génétique et Parasitologie moléculaire. Université Jean Lorougnon Guédé Daloa, Daloa, Côte d'Ivoire, 186 p.
- N'Djetchi K.M., Ilboudo H., Koffi M., Kaboré J., Kaboré J., Kaba D., Courtin F., Coulibaly B., Fauret P., Kouakou L., Ravel S., Deborggraeve S., Solano P., De Meeûs T., Bucheton B. & Jamonneau V. (2017). The study of trypanosome species circulating in domestic animals in two human African trypanosomiasis foci of Côte d'Ivoire identifies pigs and cattle as potential reservoirs of *Trypanosoma brucei gambiense*. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 11(10): 1-16.
- Ngumbi A. & Mnyone L. (2020). Molecular characterization of drug-sensitive and drug-resistant strains of *Trypanosoma congolense* isolated from Tanzania. *Journal of entomology and zoology studies*, 8(4): 1754-1759.
- Nimpaye H., Njiokou F., Njine T., Njitchouang G.R., Cuny G., Herder S. & Simo G. (2011). *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* "forest type" and *T. simiae*: prevalence in domestic animals of sleeping sickness foci of Cameroon. *Parasite*, 18(2): 171-179.
- Njiokou F., Nimpaye H., Simo G., Njitchouang G., Asonganyi T., Cuny G. & Herder S. (2010). Domestic animals as potential reservoir hosts of *Trypanosoma brucei gambiense* in sleeping sickness foci in Cameroon. *Parasite*, 17(1): 61-66.

- Nzoumbou-Boko R. (2013). Caractérisation d'une voie Immunomodulatrice impliquant l'arginase dans les Trypanosomoses. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé de Bordeaux, Bordeaux, France, 168p.
- Ouedraogo G., Demirbas-Uzel G., Rayaisse JB., Gimonneau G., Traore A., Avgoustinos A., Parker A., Sidibe I., Ouedraogo A., Traore A., Bayala B., Vreysen M., Bourtzis K. & Abd-Alla A. (2018). Prevalence of trypanosomes, salivary gland hypertrophy virus and Wolbachia in wild populations of tsetse flies from West Africa. *BMC Microbiol*, 18(1): 93-106.
- Pagabeleguem S. (2019). Lutte contre les mouches tsé-tsé en Afrique de l'Ouest : optimisation de l'utilisation de la technique de l'insecte stérile. Thèse de doctorat. Microbiologie et Parasitologie, Université de Montpellier, Montpellier, France, 149 p.
- Paguem A., Abanda B., Ndjonka D., Weber, J., Ngomtcho S., Manchang K., Renz A. & Achukwi M. (2019). Widespread co-endemicity of *Trypanosoma* species infecting cattle in the Sudano-Sahelian and Guinea Savannah zones of Cameroon. *BMC veterinary research*, 15(1): 1-15.
- Peacock L., Bailey M., Carrington M. & Gibson W. (2014). Meiosis and haploid gametes in the pathogen *Trypanosoma brucei*. *Current Biology*. 24(2): 181-187.
- Peacock L., Bailey M. & Gibson W. (2016). Dynamics of gamete production and mating in the parasitic protist *Trypanosoma brucei*. *Parasites & vectors*, 9(1): 1-12.
- Peacock L., Ferris V., Sharma R., Sunter J., Bailey M., Carrington M. & Gibson W. (2011). Identification du stade du cycle de vie méiotique de *Trypanosoma brucei* in chez la mouche tsé-tsé. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 108(9): 3671-3676.
- Portanier E. (2018). Parasitisme et structuration génétique et spatiale : exemple chez le mouflon méditerranéen, *Ovis gmelini musimon* x *Ovis sp*. Thèse de doctorat. Université de Montpellier, Montpellier, France, 376 p.
- Pouget M., Youssef S., Dumas P., Baumberger T., San Roman A., Torre F., Affre L., Médail F. & Baumel A. (2016). Spatial mismatches between plant biodiversity facets and evolutionary legacy in the vicinity of a major Mediterranean city. *Ecological Indicators*, 60: 736-745.
- Ramírez J.D. & Llewellyn M.S. (2014). Reproductive clonality in protozoan pathogens-truth or artefact? *Molecular ecology*, 23(17): 4195-4202.

-
- Ravel S., De Meeus T., Dujardin J., Zézé D., Gooding R., Dusfour I., Sané B., Cuny G. & Solano P. (2007). The tsetse fly *Glossina palpalis palpalis* is composed of several genetically differentiated small populations in the sleeping sickness focus of Bonon, Côte d'Ivoire. *Infection Genetics and Evolution*, 7(1): 116-125.
- R-Core-Team (2018). *R A Language and Environment for Statistical Computing*, Version 3.3.2 (2016-10-31) ed. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>.
- Reydon TAC. (2004). Why does the species problem still persist? *BioEssays*, 26: 300-305.
- Richardson J., Lee K., Mireji P., Enyaru J., Siström M., Aksoy S. & Caccone A. (2017). Genomic analyses of African Trypanozoon strains to assess evolutionary relationships and identify markers for strain identification. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(9): 1-16.
- Rodhain F. (2015). Le microbe, l'insecte, l'homme et les autres... : le monde des maladies à vecteurs. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 168(1): 1-7.
- Rodrigues C., Garcia H., Rodrigues A., Costa-Martins A., Pereira C., Pereira D., Bengaly Z., Neves L., Camargo E., Hamilton P. & Teixeira M. (2017). New insights from Gorongosa National Park and Niassa Natural Reserve of Mozambique in-cresing the genetic diversity of *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma vivax*-like intsetseflies, wild ungulates and livestock from East Africa. *Parasit Vectors*. 63: 370-379.
- Rotureau B. & Van Den Abbeele J. (2013). Through the dark continent: African trypanosome development in the tsetse fly. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3(53): 1-7.
- Rubin A. F. (2020). fqfa: A pure Python package for genomic sequence files. *Journal of open source software*, 5(47): 1-3.
- Sambe B. (2021). Le zébu Gobra du Centre de Recherches Zootechniques de Dahra: programme de sélection et caractérisation génétique. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, 178 p.
- Sané B., Laveissière C. & Meda H. (2000). Diversité du régime alimentaire de *Glossina palpalis palpalis* en zone forestière de Côte d'Ivoire: relation avec la prévalence de la

- trypanosomiase humaine africaine. *Tropical Medicine & International Health*, 5(1): 73-78.
- Sanger F., Nicklen S. & Coulson A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 74(12): 5463-5467.
- Sawadogo B., Rayaisse J., Adakal H., Kabre A. & Bauer B. (2017). Fipronil 1% pour-on: further studies of its effects against lab-reared *Glossina palpalis gambiensis*. *Parasitology research*, 116(11): 2927-2932.
- Séré M., Thevenon S., Belem A. & De Meeus T. (2017). Comparison of different genetic distances to test isolation by distance between populations. *Heredity*, 119(2): 55-63.
- Shah N., Nute M., Warnow T. & Pop M. (2019). Misunderstood parameter of NCBI BLAST impacts the correctness of bioinformatics workflows. *Bioinformatics*, 35(9): 1613-1614.
- Shereni W., Neves L., Argilés R., Nyakupinda L. & Cecchi G. (2021). An atlas of tsetse and animal African trypanosomiasis in Zimbabwe. *Parasites Vectors* 14(50): 1-10.
- Signaboubo D., Payne V., Moussa I., Hassan H., Berger P., Kelm S. & Simo G. (2021). Diversity of tsetse flies and trypanosome species circulating in the area of Lake Iro in southeastern Chad. *Parasites & Vectors*, 14(1): 1-11.
- Simo G., Fogue S., Njitchouang G., Njiokou F., Kuate J., Cuny G. & Asonganyi T. (2013). Identification and genetic characterization of *Trypanosoma congolense* in domestic animals of Fontem in the South-West region of Cameroon. *Infection, Genetics and Evolution*, 18: 66-73.
- Simo G., Mbida J., Eyenga V., Asonganyi T., Njiokou F. & Grebaut P. (2014). Challenges towards the elimination of Human African Trypanosomiasis in the sleeping sickness focus of Campo in southern Cameroon. *Parasit Vectors*, 7(1): 374.
- Singh R., Ranjan K. & Verma H. (2015). Satellite imaging and surveillance of infectious diseases. *Journal of Tropical Diseases & Public Health*, 4(1): 1-6.
- Sistrom M., Evans B., Benoit J., Balmer O., Aksoy S. & Caccone A. (2016). De novo genome assembly shows genome wide similarity between *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *PloS one*, 11(2): 1-13.
- Soffo Y.V. (2010). Enquête sur les hémoparasites et les parasitoses gastro-intestinales des bovins dans la région des Savanes en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat en Médecine Vétérinaire. Ecole Inter-états des Sciences Médecine Vétérinaire de Dakar, Dakar, Sénégal. 158 p.

- Sokouri D.P., Yapi-Gnaoré C.V., N'Guetta A.S.P., Loukou N.E., Kouao B.J., Touré G., Sangaré A. & Kouassi A. (2009). Utilisation et gestion des races taurines locales sous la pression des croisements avec les zébus dans les régions Centre et Nord de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 5(2): 456-465.
- Sokouri D.P., Yapi-Gnaoré C.V., N'guetta A.S.P., Loukou N.E., Kouao B.J., Toure G., Kouassi A. & Sangare A. (2010). Performances de reproduction des races bovines locales de Côte d'Ivoire. *Journal of Apply Biosciences*, 36: 2353-2359.
- Solano P., Sidibe I. & Rotureau B. (2018). Les glossines (*Diptera* : *Glossinidae*), in D. Fontenille, G. Duvallet and V. Robert, eds, 'Entomologie médicale et vétérinaire', IRD Editions, pp. 367-389.
- Souley K. (2005). Evaluation du diagnostic par PCR directe et PCR ELISA sur les ITS des trypanosomes pathogènes du bétail. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, 117 p.
- Svensson E. & Connallon T. (2019). How frequency-dependent selection affects population fitness, maladaptation and evolutionary rescue. *Evolutionary Applications*, 12(7): 1243-1258.
- Taguan. (2015). Les arbres phylogénétiques, Qu'est-ce que c'est ? Comment sont-ils construits? *Zeste de savoir*, 29 p.
- Takeet M., Fagbemi B., De Donato M., Yakubu A., Rodulfo H., Peters S., Wheto M. & Imumorin I. (2013). Molecular survey of pathogenic trypanosomes in naturally infected Nigerian cattle. *Research in Veterinary Science*, 94(3): 555-561.
- Taylor P. & Chainey J. (1994). Tabanidae (*Diptera*) from Tai National Park, Cote-d'Ivoire with descriptions of three new species. *Journal of African Zoology*, 108(5): 467-480.
- Teheseen S., Jahan N., Qamar M., Desquesnes M., Shahzad M., Deborggraeve S. Busher P. (2015). Parasitological, serological and molecular survey of *Trypanosoma evansi* infection in dromedary camels from Cholistan Desert, Pakistan. *Parasites and Vectors*, 8(1): 1-11.
- Thiruvenkadan A., Panneerselvam S., Murali N., Selvam S. & Saravanakumar V. (2014). Milk production and reproduction performance of Murrah buffaloes of Tamil Nadu, India. *Buffalo Bulletin*, 33(3): 291-300.
- Tibayrenc M. & Ayala F. & (2012). Reproductive clonality of pathogens: A perspective on pathogenic viruses, bacteria, fungi, and parasitic protozoa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(48): 3305-3313.

-
- Tibayrenc M. & Ayala F. (2015). The population genetics of *Trypanosoma cruzi* revisited in the light of the predominant clonal evolution model. *Acta Tropica*, 151: 156-165.
- Tibayrenc M. & Ayala F. (2018). Hybridization in *Trypanosoma congolense* does not challenge the predominant clonal evolution model. A comment on Tihon *et al.*, 2017. *Molecular Ecology*, 2018: 3421-3424.
- Tibayrenc M. & Ayala F. (2019). How clonal is *Trypanosoma congolense*? A necessary clarification of the predominant clonal evolution model. *Acta tropica*, 190: 28-29.
- Tihon E., Imamura H., Dujardin J., Van Den Abbeele J. & Van Den Broeck F. (2017). Découverte et analyses génomiques de l'hybridation entre lignées divergentes de *Trypanosoma congolense*, agent causal de la trypanosomose animale africaine. *Molecular Ecology*, 26(23): 6524-6538.
- Toukara M. (2021). Étude de nouvelles cibles pour le diagnostic de la trypanosomose animale africaine: Expression et purification d'antigènes recombinants de trypanosomes et évaluation de leur potentiel diagnostique Identification des antigènes immunoréactifs sécrétés par *T. congolense*. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux, Institut des sciences exactes et appliquées, Bordeaux, France, 249 p.
- Trindade S., Rijo-Ferreira F., Carvalho T., Pinto-Neves D., Guegan G., Aresta-Branco F., Bento F., Young S., Pinto A., Van Den Abbeele J., Ribeiro R., Dias S., Smith T. & Figueiredo L. (2016). *Trypanosoma brucei* Parasites Occupy and Functionally Adapt to the Adipose Tissue in Mice. *Cell Host & Microbe*, 19(6): 837-848.
- Truc P., Büscher P., Cuny G., Gonzatti M., Jannin J., Joshi P., Juyal P., Lun Z., Mattioli R., Pays E., Simaro P., Maria M., Teixeira G., Touratier L., Vincendeau P. & Desquesnes M. (2013). Atypical human infections by animal trypanosomes. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(9): 1-7.
- Tweneboah A., Rosenau J., Agyapong A., Addison T., Mahamat I., Weber J., Kelm S. & Badu K. (2021). The transmission of African Animal Trypanosomiasis (nagana) in two districts in the forest zone of Ghana. *bioRxiv*. 1-29.
- Van den Broeck F., Tavernier L.J., Vermeiren L., Dujardin J.C. & Van Den Abbeele J. (2018). Mitonuclear genomics challenges the theory of clonality in *Trypanosoma congolense*: Reply to Tibayrenc and Ayala. (2018): 3425-3431.

- Vourchakbé J., Tiofack A., Mbida M. & Simo G. (2020). Trypanosome infections in naturally infected horses and donkeys of three active sleeping sickness foci in the south of Chad. *Parasites & vectors*, 13(1): 1-12.
- Vulpiani M., Carvelli A., Giansante D., Iannino F., Paganico D. & Ferri N. (2013). Reemergence of Dourine in Italy: Clinical Cases in Some Positive Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(6): 468-474.
- Wangwe II., Wamwenje S., Mirieri C., Masila N., Wambua L. & Kulohoma B. (2019). Modelling appropriate use of trypanocides to restrict wide-spread multi-drug resistance during chemotherapy of animal African trypanosomiasis. *Parasitology*, 146(6): 774-780.
- Wargnies, M. (2016). Adaptations métaboliques de *Trypanosoma brucei* en réponse à des variations des conditions intra-et extracellulaires. Thèse de doctorat. Bordeaux, France, 404 p.
- Weber J., Ngomtcho S., Shaida S., Chechet G., Gbem T., Nok J., Mamman M., Achukwi D. & Kelm S. (2019). Genetic diversity of trypanosome species in tsetse flies (*Glossina* spp.) in Nigeria. *Parasites & vectors*, 12(1): 1-12.
- Weedall G. & Hall N. (2015). Sexual reproduction and genetic exchange in parasitic protists. *Parasitology*, 142(1): 120-127.
- Weerakoon K., Gordon C. & McManus D. (2018). DNA diagnostics for schistosomiasis control. *Tropical medicine and infectious disease*, 3(3): 1-20.
- Weiss B., Maltz M., Vigneron A., Wu Y., Walter K., O'Neill M. & Aksoy S. (2019). Colonization of the tsetse fly midgut with commensal *Kosakonia cowanii* *Zambiae* inhibits trypanosome infection establishment. *PLoS pathogens*, 15(2): 1-23.
- Who. (2013). Control and surveillance of human African trypanosomiasis. Report of a WHO Expert Committee. *WHO technical report series*, 250 p.
- Wilcox J., Kerschner A. & Hollocher H. (2019). Indel-informed Bayesian analysis suggests cryptic population structure between *Plasmodium knowlesi* of humans and long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Malaysian Borneo. *Infection, Genetics and Evolution*, 75(10): 39-94.
- Wognin M., Sokouri D., Kouassi C., Dayo G., Wongbé Y. & Valentine Y. (2020). Diversité génétique de six populations de *Heterobrycon longifilis* de Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 44(2): 7621-7633.

- Yao L., Gagnon B., N'Dri K., Coulibaly B. & Komono D. (2020). Prévalence trypanosomienne dans le bassin cotonnier en zone soudanaise de Côte d'Ivoire. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 8(4): 1-8.
- Zardoya R. (2021). Quest for the best evolutionary model. *Journal of Molecular Evolution*, 89(3): 146-150.
- Zhao Y., Liu Z., Soe M., Wang L., Soe T., Wei H. & Cui L. (2019). Genetic variations associated with drug resistance markers in asymptomatic *Plasmodium falciparum* infections in Myanmar. *Genes*, 10(9): 1-17.

ANNEXES

Annexe I : Questionnaires épidémiologiques et cliniques

Centre de prospection Date

Etat civil

Nom :

Prénom :

Age : Sexe : Ethnie : Profession :

Info socio-sanitaire

Depuis quand faites-vous de l'élevage ?.....

Avez-vous déjà participé à une séance de dépistage de la THA ?.....Quand ?.....

Lieu : Résultat :

Actuel ou ancien trypanosomé dans la famille proche :..... Leur nombre :

Leur date de dépistage : La période de la maladie :.....

Lien de parenté :

Leur lieu de résidence :

Autre remarques

.....
.....
.....
.....

Questionnaires épidémiologiques sur l'animal

Code identifiant l'animal (première lettre de la localité B/S ; chiffre correspondant au rang du propriétaire, première lettre de l'espèce, numéro d'ordre des animaux (01, 02, ...))

Espèce

Etat général de la santé :

➤ Bon état général

➤ Passable

➤ Mal en point

Ganglion (présence/absence)

Lieu de pâturage :

- Saison sèche
- Saison humide

Suivi sanitaire :

- Traitement reçu
- Fréquence

Test parasitologiques

BCT - + Nombre de trypanosomes :

Annexe II : Protocole du Kit d'extraction QIAGEN

- 1- Dans des tubes de 1,5 mL, recueillir 500 μ L de sang, puis ajouter 500 μ L d'eau pure.
- 2- Vortexer 10 secondes pendant 10 min et centrifuger les tubes à 6000 rpm pendant 3 min.
- 3- Virer le surnageant et resuspendre le culot en vortexant rapidement.
- 4- Ajouter 20 μ L de protéine K puis compléter le volume par ajout de 150 μ L de PBS pour un volume total de 200 μ L.
- 5- Vortexer et centrifuger 10 secondes pour faire tomber le liquide.
- 6- Ajouter 200 μ L de tampon AL dans les tubes.
- 7- Vortexer vigoureusement et incuber à 56°C pendant 20 min au maximum. Après l'incubation, centrifuger pour faire tomber le liquide.
- 8- Ajouter 200 μ L d'éthanol 100 %, vortexer et centrifuger pour faire tomber le liquide.
- 9- Transférer à l'aide des pipettes le contenu des tubes dans des colonnes numérotés.
- 10- Centrifuger la totalité à 13000 rpm, 1 min.
- 11- Jeter les collecteurs et récupérer les colonnes dans de nouveaux collecteurs.
- 12- Ajouter 500 μ L de tampon AW1 et centrifuger à 13000 rpm, 1min.
- 13- Récupérer à niveau les colonnes sur des nouveaux collecteurs.
- 14- Ajouter 500 μ L de tampon AW2 et centrifuger à 14000 rpm pendant 3 min.
- 15- Vider les collecteurs, replacer les colonnes et centrifuger à 14000 rpm pendant 1min.
- 16- Les colonnes sont maintenant posées sur les tubes dans lesquels sera élué l'ADN.
- 17- Ajouter 100 μ L de tampon AE et laisser incuber 5 min à température ambiante.
- 18- Centrifuger à 14000 rpm pendant 1min puis remettre 100 μ L de tampon AE dans les colonnes, incuber 5 min à température ambiante.
- 19- Centrifuger à 14000 rpm pendant 1min.
- 20- Récolter 200 μ L d'éluât à la fin de la manipulation.

Annexe III : Programme d'amplification de l'ADN

Etape 1	: 95°C pendant 3 min.	
Etape 2	: 95°C pendant 30 secondes.	} X 39
Etape 3	: 55°C pendant 1 min 30 secondes.	
Etape 4	: 72°C pendant 1 min.	
Etape 5	: 72°C pendant 5 min.	
Etape 6	: 4°C conservation	

Annexe IV : Populations échantillonnées par village prospectés

Départements	Village	Espèce animale	Total échantillonnés
Bonon	Zanoufla	Bovins	25
Bonon	Blanoufla	Bovins	16
Bonon	Zanoufla	Porcs	16
Bonon	Blanoufla	Porcs	30
Bonon	Dianoufla	Porcs	30
Bonon	Biégon	Porcs	30
Bonon	Kangreta	Porcs	30
Sinfra	Huafla	Bovins	34
Sinfra	Bénéfla	Porcs	30
Sinfra	Paabénéfla	porcs	30
Sinfra	Nagadoua	Porcs	30
Sinfra	N'Drikro	Porcs	18
Vavoua	Ancien-Prozi	Bovins	30
Vavoua	Bazra	Bovins	41
Vavoua	Mignoré	Bovins	40
Vavoua	PK5	Porcs	35
Vavoua	PK14	Porcs	35
Vavoua	PK11	Porcs	35
Vavoua	Gozy	Porcs	35
Vavoua	Trafla Gottron	Porcs	35

Abengourou	Anékouadiokro	Bovins	24
Abengourou	N'Grakon	Bovins	30
Abengourou	Djangobo	Bovins	28
Abengourou	Abradinou	Porcs	28
Bouna	Bavé	Bovins	30
Bouna	Vonkoro-Mali	Bovins	32
Bouna	Depingo	Bovins	31
Bouna	Wékélé	Bovins	30
Bouna	Kakpin	Porcs	30
Bouna	Tiéssaba	Porcs	26
Ferkéssedougou	Nafoungolo	Bovins	35
Ferkéssedougou	Kadaavogo	Bovins	35
Ferkéssedougou	Laleraba	Bovins	35
Ferkéssedougou	Badra	Bovins	35
Ferkéssedougou	Lorhonzoba	Bovins	30
Ferkéssedougou	Kafolo-Bac	Porcs	25
Ferkéssedougou	Bougou	Porcs	26
San-Pédro	Monogaga	Porcs	20
San-Pédro	Boubélé	Porcs	19
Soubré	Kodaya	Bovins	28
Soubré	Sagboya	Porcs	23
Aboisso	Bambadougou	Bovins	35
Aboisso	Salamdougou	Bovins	35

Aboisso	Songan	Porcs	12
Guiglo	Guibobly	Bovins	6
Guiglo	Yaoudé	Porcs	20
Duékoué	Panhoulo	Porcs	16
Duékoué	Tien-Oulla	Bovins	10
Duékoué	Délobly	Porcs	29
Man	Gbangbegouiné- Yati	Bovins	20
Man	Drangouiné	Bovins	12
Danané	Yallo	Bovins	14
Danané	Gbanlé	Porcs	28
Sassandra	Labolo	Bovins	15
Sassandra	Dagbego	Porcs	12

PUBLICATION

RESUME

En Côte d'Ivoire, les trypanosomes animaux dont le plus important, *T. congolense* représentent un facteur limitant le développement de l'élevage. Cependant, la situation réelle de la trypanosomose animale africaine est méconnue et peu de recherches ont été entreprises sur la génétique des populations et la dynamique de transmission des trypanosomes. Cette étude a permis de déterminer la distribution géographique de la trypanosomose animale africaine en Côte d'Ivoire ; ensuite d'évaluer la diversité et la structure génétique des populations de *T. congolense* chez les animaux domestiques ; et enfin d'évaluer l'association entre la distribution géographique de *T. congolense* et ses paramètres génétiques. La méthodologie utilisée a consisté dans un premier temps à investiguer les trypanosomes circulant chez les animaux domestiques de différentes régions de Côte d'Ivoire, en utilisant des outils sérologiques, parasitologiques et moléculaires. Puis à caractériser génétiquement 31 souches de *T. congolense* provenant des régions Nord, Sud, Est et Centre-Ouest avec cinq marqueurs microsatellites. Et enfin à vérifier l'existence d'une structuration géographique de *T. congolense* grâce à l'analyse en composante principale et au test de Mantel. Au total, 1473 animaux domestiques dont 741 bovins et 732 porcs provenant de 14 localités dans différentes régions ont été testés. Trois espèces de trypanosomes ont été trouvées dans toutes les localités prospectées dans les proportions suivantes : 9,14 % pour *Trypanosoma brucei*, 7,60 % pour *T. congolense* forêt, 5 % pour *T. vivax* et 2 % pour *T. congolense* savane. *Trypanosoma brucei* est majoritaire chez les bovins dans les localités du Nord, et chez les porcs du Centre-Ouest du pays. En ce qui concerne *T. congolense* forêt, des taux d'infections plus faibles ont été observés chez les bovins en générale. Chez les porcs ce trypanosome est majoritaire dans l'Est du pays et dans le Centre-Ouest. Au niveau de l'infection à *T. vivax*, les prévalences les plus élevées ont été observées chez les bovins dans le nord. Chez les porcs, de faibles prévalences ont été observées en générale. Enfin de rares infections à *T. congolense* savane ont été enregistrées chez les bovins et chez les porcs, seulement la localité de Bouna au nord a enregistré des positifs. Les analyses génétiques de *T. congolense* ont révélé une importante diversité génétique au sein de cette espèce et sont en faveur d'une reproduction clonale pour la sous-espèce *T. congolense* forêt. Aucune corrélation n'a été observée entre la distribution géographique et les paramètres génétiques chez les des deux sous-espèces de *T. congolense* dans cette étude.

Mots-clés : Trypanosomose Animale Africaine ; *Trypanosoma congolense* ; Distribution géographique ; Structuration génétique ; Animaux domestiques

ABSTRACT

In Côte d'Ivoire, animal trypanosomes, including the most important one, *T. congolense*, represent a limiting factor for the development of livestock. However, the real situation of African animal trypanosomiasis is not well known and little research has been undertaken on the population genetics and transmission dynamics of trypanosomes. This study determined the geographical distribution of African animal trypanosomiasis in Côte d'Ivoire; then assessed the diversity and genetic structure of *T. congolense* populations in domestic animals; and finally evaluated the association between the geographical distribution of *T. congolense* and its genetic parameters. The methodology used consisted in first investigating the trypanosomes circulating in domestic animals from different regions of Côte d'Ivoire, using serological, parasitological and molecular tools. Then to genetically characterize 31 strains of *T. congolense* from the North, South, East and Center-West regions with five microsatellite markers. And finally, to verify the existence of a geographical structuring of *T. congolense* using principal component analysis and the Mantel test. A total of 1473 domestic animals including 741 cattle and 732 pigs from 14 localities in different regions were tested. Three species of trypanosomes were found in all the localities surveyed in the following proportions: 9.14% for *Trypanosoma brucei*, 7.6 % for *T. congolense* forest, 5% for *T. vivax* and 2% for *T. congolense* savanna. *Trypanosoma brucei* is predominant in cattle in the northern localities and in pigs in the central-western part of the country. With respect to *T. Congolense* forêt, lower infection rates have been observed in cattle in general. In pigs, this trypanosome is most prevalent in the eastern part of the country and in the central-western part. In terms of *T. vivax* infection, the highest prevalences were observed in cattle in the north. In pigs, low prevalences were observed in general. Finally, rare *T. congolense* savannah infections were recorded in cattle and pigs, with only the northern locality of Bouna recording positives. Genetic analysis of *T. congolense* revealed significant genetic diversity within this species and favored clonal reproduction for the *T. congolense* forest subspecies. No correlation was observed between geographic distribution and genetic parameters in the two *T. congolense* subspecies in this study.

Keywords: African Animal Trypanosomiasis; *Trypanosoma congolense*; Geographic distribution; Genetic structuring; Domestic animals

