

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE ANIMALES

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

ET ECOLOGIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATORY OF
PARASITOLOGY AND ECOLOGY

Caractérisation génétique des populations de *Glossina palpalis palpalis* (Robineau-Desvoidy, 1830) à l'aide des marqueurs de l'ADN mitochondrial : importance dans le développement des stratégies de lutte contre la maladie du sommeil

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie des
Organismes Animaux

Par : TCHOUOMENE LABOU Judith

DEA en Biologie Animale

Sous la direction de

NJIOKOU Flobert

Professeur à l'Université de Yaoundé I

Année Académique : 2020



UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

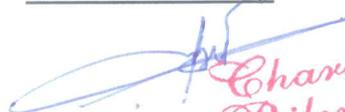
ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de soutenance de la **Thèse de Doctorat/Ph.D** en Biologie des Organismes Animaux (Option Parasitologie et Ecologie) de madame **TCHOUMENE LABOU Judith**, matricule 02Y002, soutenance autorisée par la correspondance N° 201057/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 19 Juin 2020, attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation faite le 22 Juin 2020, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi cette attestation lui est délivrée pour servir et valoir de ce que de droit.

Yaoundé, le 23.06.2020

Président du Jury


Charles Félix Bilong
Professeur

Examineur


Ruth Mony-Nicne, Ph.D
Associate Professor
University of Yaoundé I

Chef de Département



Charles Félix Bilong
Professeur

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF
ANNÉE ACADEMIQUE 2019/2020		

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 03 Janvier 2020

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maitre de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR : MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOUGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste

11	AZANTSA KINGUE Gabin Boris	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

22	AKINDEH MBUH NJI	Chargée de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara N.	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
25	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste

36	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFUET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste

36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste

44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste

17	DJEUANI Astride Carole	Chargée de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargée de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
23	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargée de Cours	En poste
24	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargée de Cours	En poste
25	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

26	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
27	KABELONG BANAHO Louis-Paul- Roger	Assistant	En poste
28	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
29	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
30	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
31	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
32	TEMEGNE NONO Carine	Assistante	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (35)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice-Recteur Univ. Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ. Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI/Chef de Département</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancelor/UB</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>

10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste

23	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
15	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
17	NJOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste

20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste
25	KOUOTOU Daouda	Chargé de Cours	En poste
26	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
27	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
28	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste

33	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
34	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
35	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NKENGFACK Augustin Ephrem	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	Directeur/ MINESUP

7	WANDJI Jean	Professeur	En poste
---	-------------	------------	----------

8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYYI</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service Programme & Diplomes</i>
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	Chef Service/MINESUP
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYYI</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste

25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK Carine	Chargée de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste

34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (27)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div. MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA. MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargée de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>CD Info/ Inspecteur MINESUP</i>
---	---------------------	------------	------------------------------------

2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

7	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste

3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

13	ESSONO Damien Marie	Assistante	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (42)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
5	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
6	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
7	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
8	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
9	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
10	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
11	WOAFO Paul	Professeur	En poste

12	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
13	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE KENMOE épse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste

15	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
16	EYEBE FOU DA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	MINERESI
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste

28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MEL'I Joëlle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
38	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

40	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
41	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
42	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)
--

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	DAAC/Uma
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste

31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
39	TCHAPCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (05)	3 (2)	39 (16)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	46 (13)
BPV	06 (0)	10 (02)	9 (04)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (1)	10 (02)	12 (02)	03 (0)	35 (5)
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	03 (0)	35(7)
IN	2 (0)	1 (0)	13 (01)	10 (02)	26 (3)
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (01)	30 (2)
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	17 (5)
PHY	11 (0)	16 (01)	10 (03)	03 (0)	40 (4)
ST	8 (1)	14 (01)	19 (04)	02 (0)	43(6)
Total	68 (4)	100 (27)	130 (29)	46 (10)	344 (70)

Soit un total de	344 (70) dont :
- Professeurs	68 (4)
- Maîtres de Conférences	100 (27)
- Chargés de Cours	131 (29)
- Assistants	46 (10)
() = Nombre de Femmes	70

Et comme Moïse éleva le serpent dans le désert, il faut de même que le Fils de l'homme soit élevé, afin que quiconque croit en lui ait la vie éternelle.
(Jean 3 : 14-15)

Or, la vie éternelle, c'est qu'ils te connaissent, toi, le seul vrai Dieu, et celui que tu as envoyé, Jésus-Christ.
(Jean 17 : 3)

DEDICACE

Je dédie ce travail à mon époux Alain Dandé, et à nos merveilleux enfants Johan Aïmeric, Grâce Samuela et Paul Raphaël.

REMERCIEMENTS

Cette thèse, effectuée dans l'unité Trypanosomoses du Laboratoire de Parasitologie et Ecologie de l'Université de Yaoundé I, a été réalisée en partie au Laboratoire d'Immunologie et de Biotechnologie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I, et aussi en partie au laboratoire de l'Unité Mixte de Recherches (UMR177) de l'IRD-CIRAD de Montpellier en France. Les recherches effectuées durant cette thèse ont bénéficié d'un financement du projet AIRES-SUD 7003 du ministère français de la coopération, géré par l'IRD (2009-2011). Je remercie infiniment tous ces organismes.

Je remercie sincèrement tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail. Je pense particulièrement aux personnes suivantes :

- ✚ le Professeur **NJIOKOU Flobert**, Directeur de cette thèse, pour avoir accepté de m'intégrer dans son équipe de recherche, et pour m'avoir fait confiance et guidée dans la réalisation du présent travail. En véritable père, il a su m'encourager lorsque j'ai voulu baisser les bras, il a été patient pendant mes maternités. En véritable enseignant, ses grandes connaissances et sa rigueur scientifique ont contribué à bâtir le chercheur que je suis aujourd'hui. J'aimerais qu'il trouve ici l'expression de toute ma gratitude.
- ✚ le Professeur **SIMO Gustave**, qui fait partie de ceux qui ont initié la recherche sur le thème qui est développé dans cette thèse, a énormément contribué à sa réalisation. Sa grande expérience scientifique et particulièrement en biologie moléculaire a été une ressource précieuse dans l'élaboration de ce travail. Je lui dis grandement merci.
- ✚ le regretté Professeur **ASONGHANYI Tazoacha**, chef du laboratoire d'Immunologie, Biotechnologie et Biochimie de la Faculté de Médecine et de Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I, qui a fourni un espace et un équipement adéquat dans son laboratoire pour la réalisation d'une partie des travaux de ce thèse. Je lui en suis très reconnaissante.
- ✚ le Docteur **RAVEL Sophie**, chercheur à l'UMR177 de l'IRD-CIRAD de Montpellier qui non seulement a facilité mon installation et mon adaptation en France, mais aussi a beaucoup contribué à ma formation sur les différentes techniques moléculaires utilisées au laboratoire. Sa méticulosité et sa rigueur m'ont permis de m'améliorer sur le plan technique. Je lui suis très reconnaissante.

- ✚ le Dr **CUNNY Gérard**, ancien directeur de l'UMR177 de l'IRD-CIRAD de Montpellier, qui m'a ouvert les portes de l'UMR177 pour la réalisation d'une autre partie de ce travail. Je lui dis du fond du cœur merci.
- ✚ les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, dont les Professeurs **BILONG BILONG Charles Félix**, **FOMENA Abraham**, **NGASSAM Pierre**, **TCHUEM TCHUENTE Louis Albert**, **MIMPFOUNDI Rémy**, les Docteurs **BELLET EDIMO Roger**, et **ENO Anna** (de regrettée mémoire), pour les enseignements de qualité qui ont contribué à ma formation académique en tant que parasitologue.
- ✚ le Dr **MELACHIO TANEKOU Tito Trésor**, mon promotionnaire et ami, qui m'a toujours apporté son aide tant sur le plan académique que personnel, je lui dis particulièrement merci pour sa disponibilité et sa promptitude à rendre les autres meilleurs.
- ✚ les Dr **NJITCHOUANG Guy Roger**, **FARIKOU Oumarou** et **NANA DJEUNGA Hugues Clotaire**, qui m'ont initiée aux différentes techniques de terrain et de laboratoire. Mes premiers pas dans la recherche, faits en tenant leurs mains ont été déterminants pour me rendre apte à la marche aujourd'hui. Merci.
- ✚ les camarades du Laboratoire de Parasitologie et Ecologie de l'Université de Yaoundé I, dirigés ou supervisés par le Professeur **NJIOKOU** tels que **FONGHO SUH Pierre**, Dr **FOKAM Alvine Christelle**, **JUPSA Stéphanie**, **AMVONGO ADJIA Nathalie**, **NOUMBOUSSIE Sylvain**, Dr **TSAGMO NGOUNE Jean Marc**, **KAME NGASSE Ginette Irma**, **TCHAMI MBAGNIA Murielle**, **NGAMBIA Freitas Sougal**, **FEUDJIO TSOLEFACK Stève**, **BAKARY Fadilatou** qui m'ont montré qu'au-delà de la relation scientifique qui nous met ensemble, il y a la relation humaine. Leurs corrections et suggestions ont rendu ce travail meilleur. Je leur dis infiniment merci.
- ✚ mes frères, le feu **METUNO LABOU Blaise**, **SOUKOUA DASSE LABOU Eric**, **TSINDA LABOU Valery**, **FOUOTSOP LABOU Patrick**, ma sœur, madame **KUETE** née **MANEKOU LABOU Sorel**, mes chères cousines, **NONKI Marie Line** et **KOUGOM Edith**, et à **FOKOU KUETE Mireille**. Je leur suis reconnaissante pour tout l'amour qu'ils m'ont toujours manifesté depuis que je suis née. Merci également à leurs conjoints respectifs.
- ✚ tous les membres de l'**Institut Tyrannus** et un accent particulier à ceux de l'**Ecole des Femmes**, qui offre un cadre pour ma croissance multidimensionnelle. Merci aux

familles **LINGOM**, **MFONDI** et **FOMA** pour leurs déploiements dans ma vie. Merci à **KAAM Siméon** et **SIMEU Anastasie** pour la relecture de ce document.

✚ les couples **NGUEDIA**, **TCHOUMBOUGNANG**, **FEUDJIO**, **TAFFEM** et **CARAYON** pour leur amitié.

✚ ma belle-mère **BEILING Malouma**, ma marraine **TSAPI Denise**, ma filleule **LOKENG Iness** et les membres de la grande famille **TANDA Marc**, pour leur amour et leurs soutiens.

✚ au-dessus de tout, merci à **Jésus-Christ** sans qui rien n'aurait pu être fait.

SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	i
DEDICACE.....	xvi
REMERCIEMENTS	xvii
SOMMAIRE	xx
LISTE DES ABREVIATIONS	xxiii
LISTE DES FIGURES	xxiv
LISTE DES TABLEAUX.....	xxv
RESUME.....	xxvi
ABSTRACT	xxviii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA MALADIE DU SOMMEIL	5
I-1. Glossine.....	6
I-1-1. Description	6
I-1-2. Taxonomie	6
I-1-3. Distribution géographique	8
I-1-4. Biologie et cycle de développement	9
I-2. Trypanosome.....	11
I-2-1. Historique.....	11
I-2-2. Taxonomie	12
I-2-3. Description	14
I-2-4. Cycle évolutif.....	16
I-3. Trypanosomose Humaine Africaine (THA)	17
I-3-1. Distribution de la maladie	17
I-3-2. Situation épidémiologique de la THA	18
I-3-3. Transmission de la maladie et facteurs de risque d'infection	20
I-3-4. Manifestations cliniques	21
I-3-5. Lutte contre la maladie.....	21
I-4. Généralités sur la génétique des populations	31
I-4-1. Quelques concepts clés	31
I-4-2. Facteurs influençant la génétique des populations.....	31
I-4-3. Types de marqueurs utilisés en génétique des populations	32
I-4-4. Importance de l'ADN mitochondrial en génétique des populations.....	35

CHAPITRE II : CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL ET METHODES.....	37
II-1. Cadre géographique.....	38
II-1-1. Raison du choix des localités.....	38
II-1-2. Foyer de Bipindi.....	39
II-1-3. Foyer de Fontem.....	40
II-1-4. Foyer de Campo.....	41
II-1-5. Foyer de Bafia.....	42
II-1-6. Foyer de Malanga.....	43
II-1-7. Foyer d'Azaguié.....	44
II-1-8. Foyer de Nagadoua.....	45
II-2. Matériel et méthodes.....	46
II-2-1. Capture des glossines, dissection et observation microscopique.....	46
II-2-2. Identification moléculaire de quelques espèces de trypanosomes.....	47
II-2-3. Identification de l'origine des repas de sang.....	50
II-2-4. Amplification des gènes mitochondriaux de <i>G. palpalis palpalis</i>	53
II-2-5. Résolution par la méthode du SSCP.....	54
II-2-6. Séquençage de quelques individus.....	54
II-2-7. Analyse des données.....	55
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	61
III-1. Résultats.....	62
III-1-1. Diversité spécifique et DAP des glossines à Bipindi.....	62
III-1-2. Taux d'infection des glossines et origine des repas sanguins à Bipindi.....	63
III-1-3. Distribution spatiale de l'IRT de la THA à Bipindi.....	64
III-1-4. Echantillons de glossines analysés grâce aux marqueurs mitochondriaux.....	66
III-1-5. Sensibilité et polymorphisme des marqueurs étudiés.....	66
III-1-6. Séquençage.....	68
III-1-7. Distribution des haplotypes.....	70
III-1-8. Structure génétique.....	73
III-1-9. Histoire démographique des populations.....	76
III-1-10. Analyse phylogénétique.....	78
III-1-11. Corrélation entre les IRT et différents facteurs du foyer de Bipindi.....	80
III-2. Discussion.....	83
III-2-1. Etudes épidémiologiques à Bipindi.....	83
III-2-2. Analyses génétiques grâce aux marqueurs d'ADN mitochondriaux.....	87

III-2-3. Corrélation entre l'IRT / haplotypes-piège-village	90
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	91
RÉFÉRENCES	94
ANNEXES	107
ARTICLES PUBLIES ISSUS DE LA THESE	110

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADNmt : ADN mitochondrial

CATT : « Card Agglutination Test for Trypanosomiasis »

CIATT : « Card Indirect Agglutination Test for Trypanosomiasis »

CTC : Centrifugation en Tubes Capillaires

DAP : Densité Apparente par Piège et par jour

ELISA : « Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay »

IFI : ImmunoFluorescence Indirecte

IRT : Indice de Risque de Transmission

KiVI : « Kit for In Vitro Isolation »

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

mAECT : « mini-Anion Exchange Centrifugation Technique »

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementales

QBC: « Quantitative Buffy Coat »

RDC : République Démocratique du Congo

s. l. : « sensu lato »

s. str. : « sensu stricto »

SIG : Système d'Information Géographique

SIT : « Sterile Insect Technique »

SSCP : « Single Strand Conformational Polymorphism »

TAA : Trypanosomose Animale Africaine

THA : Trypanosomose Humaine Africaine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Une glossine.....	6
Figure 2 : Classification des glossines (OMS, 1986), modifié.....	7
Figure 3 : (a) Distribution géographique des glossines en Afrique.....	9
Figure 3 : (b) Distribution géographique des glossines intégrant le couvert végétal.....	9
Figure 4 : Cycle de reproduction des glossines.....	11
Figure 5 : Classification des trypanosomes.....	13
Figure 6 : Structure du trypanosome.....	14
Figure 7 : Différentes formes de <i>T. brucei</i> s.l. chez la glossine.....	15
Figure 8 : Différentes formes des trypanosomes du sous-genre Trypanozoon.....	15
Figure 9 : Cycle évolutif des trypanosomes.....	17
Figure 10 : Répartition des deux formes de trypanosomose humaine africaine.....	18
Figure 11 : Structure d'une mitochondrie.....	35
Figure 12 : Carte montrant la localisation géographique des sites d'études.....	38
Figure 13 : Carte du foyer de trypanosomoses de Bipindi.....	40
Figure 14 : Carte du foyer de trypanosomoses de Fontem.....	41
Figure 15 : Carte du foyer de trypanosomoses de Campo.....	42
Figure 16 : Carte du foyer de trypanosomoses de Bafia.....	43
Figure 17 : Carte montrant la localisation géographique du foyer de Malanga.....	44
Figure 18 : Carte présentant la localisation géographique de Nagadoua et d'Azaguié.....	45
Figure 19 : Photo d'un piège pyramidal.....	46
Figure 20 : Indices de risque de transmission par pièges en juillet (a) en mars (b).....	65
Figure 21 : Gel de polyacrylamide montrant trois profils différents (A, B et C).....	67
Figure 22 : Quelques séquences alignées montrant des substitutions de nucléotides.....	69
Figure 23 : Réseau d'entrée médiane des haplotypes de <i>G. p. palpalis</i>	71
Figure 24 : Relation entre les distances génétiques et géographiques.....	76
Figure 25 : Distribution des disparités dans différentes populations.....	77
Figure 26 : Arbre phylogénétique à cercle condensé.....	79
Figure 27 : Différents haplotypes au niveau des pièges dans les différents villages.....	81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Composition d'un tube contenant l'ADN à amplifier par la PCR.....	48
Tableau II : Séquences des amorces des espèces et sous-espèces de trypanosomes.....	50
Tableau III : Composition d'un tube contenant l'ADN à amplifier par la PCR-Cyt B.....	51
Tableau IV : Séquences d'amorces des marqueurs d'ADNmt (Simon <i>et al.</i> , 1994).....	53
Tableau V : Diversité spécifique des glossines capturées pendant les deux périodes	62
Tableau VI : DAP et proportion des glossines ténérales pendant les deux périodes	62
Tableau VII : Taux d'infection des glossines par différentes espèces de trypanosomes	63
Tableau VIII : Origine des repas de sang	64
Tableau IX : Nombre de glossines analysées dans chaque population et sous population.	66
Tableau X : Nombre d'individus amplifiés par les marqueurs mitochondriaux	67
Tableau XI : Evaluation de la sensibilité de la technique SSCP	68
Tableau XII : Nombre de sites polymorphes par population sur l'ensemble des marqueurs...	69
Tableau XIII : Liste et proportion des haplotypes sur l'ensemble de l'étude	70
Tableau XIV : Indices de diversités haplotypiques et nucléotidiques par population	72
Tableau XV : Analyse de la variance (AMOVA) des fréquences haplotypiques	73
Tableau XVI : Valeurs de F_{ST} et de (P) entre deux populations	74
Tableau XVII : Valeurs de F_{ST} et de la distance géographique entre paire de populations	75
Tableau XVIII : Paramètres démographiques dans les différentes populations	78
Tableau XIX : Différents profils par marqueur et par sous population à Bipindi.....	80
Tableau XX : Valeurs de F_{ST} et de (P) entre deux sous populations	81
Tableau XXI : Analyse de la variance (ANOVA) IRT et différentes variables.....	82

RESUME

La Trypanosomose Humaine Africaine demeure un problème de santé publique. En 2018 l'OMS estimait à 65 million le nombre de personne exposé au risque de contracter la maladie. Approfondir les connaissances en entomologie, en écologie et en génétique des insectes vecteurs de parasites est indispensable pour mener à bien la lutte contre les maladies causées par ces derniers. La maladie du sommeil n'échappe pas à cette logique : les connaissances en entomologie et en écologie des espèces de glossines, vectrices des trypanosomes, permettraient d'identifier les lieux et les périodes de l'année où la probabilité de la transmission du parasite est la plus élevée ; et donc les lieux où devrait s'effectuer prioritairement la lutte contre la maladie. La génétique des populations de glossine quant à elle pourrait aider à évaluer le degré d'isolement des populations de ces vecteurs afin de proposer des protocoles de lutte efficaces. L'indice de risque de transmission IRT (r) a été utilisé pour déterminer les niveaux de risque de transmission du parasite (trypanosome) dans le foyer de la maladie du sommeil de Bipindi au Cameroun, tout en évaluant l'influence des paramètres spatio-temporels sur cette transmission. Pour cela, deux études comparatives ont été menées pendant deux saisons différentes (juillet et mars). De plus, le flux génétique au sein et entre des populations géographiquement séparées de *Glossina palpalis palpalis* du Cameroun, de la République Démocratique du Congo (RDC) et de la Côte d'Ivoire a été estimé. L'histoire démographique de ces populations a été déterminée, et les relations phylogénétiques entre les individus de cette sous-espèce ont été évaluées. Ces paramètres sont importants dans l'établissement des stratégies de lutte efficace contre la maladie du sommeil. Une densité nettement plus élevée de *Glossina palpalis palpalis* a été observée en juillet, mais les taux d'infection les plus élevés ont été observés en mars. Parmi les repas de sang identifiés avec succès, 66,7% provenaient des humains et 33,3% des porcs. L'indice de risque de transmission le plus élevé a été obtenu dans le village Lambi. L'évaluation de l'IRT au niveau des pièges a montré que le risque était plus élevé en juillet et près des sources d'eau pérennes. Les analyses génétiques ont porté sur un total de 418 *Glossina palpalis palpalis* dont 258 échantillonnées au Cameroun, précisément à Bipindi, Campo, Fontem et Bafia, 100 à Azaguié et Nagadoua en Côte d'Ivoire et 60 à Malanga en RDC. La variation à trois marqueurs mitochondriaux concaténés à savoir COI, COII-TLII et 16S2 a été examinée. Trente-quatre haplotypes ont été identifiés, parmi lesquels 30 étaient «rares», car présents chez moins de 5% du nombre total d'individus. Aucun haplotype n'a été partagé entre les populations du Cameroun, de la Côte d'Ivoire et de la RDC. La valeur de la diversité haplotypique H en RDC était deux et trois fois

supérieures à celles obtenues au Cameroun et en Côte d'Ivoire. La diversité nucléotidique π_n était six fois plus petite en Côte d'Ivoire qu'en RDC et au Cameroun. L'indice de fixation F_{ST} était de 0,88. Cette étude a indiqué qu'une grande distance génétique sépare les populations de *G. palpalis palpalis* des trois pays, et est corrélée à la distance géographique entre les populations. Il a également été observé l'existence d'un flux de gènes substantiel entre les glossines provenant des localités séparées par plus de 100 km au Cameroun et entre les glossines provenant des localités séparées par plus de 200 km en Côte d'Ivoire. Les paramètres démographiques suggèrent que les mouches tsé-tsé de Fontem (Cameroun) ont subi une réduction de la taille de leur population. Les autres populations d'Afrique centrale sont composées de grandes populations permanentes. En Côte d'Ivoire, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'histoire démographique des populations de glossine. Les analyses phylogénétiques ont confirmé que les *Glossina palpalis palpalis* provenant de la République Démocratique du Congo diffèrent génétiquement des glossines des deux autres pays tel que mentionnées dans de précédentes études.

Mots clés : *Glossina palpalis palpalis*, Trypanosomose Humaine Africaine, Indice de Risque de Transmission, marqueurs d'ADN mitochondriaux, différenciation génétique, phylogénie.

ABSTRACT

Human African Trypanosomiasis remains a public health problem. In 2018 WHO estimated that 65 million people were at risk of contracting the disease. Improving the knowledge on entomology, ecology and genetics of insect that are vectors of parasites is essential to successfully fight against the diseases caused by them. Sleeping sickness does not escape this logic: the entomology and ecology knowledge of tsetse fly species, trypanosomes vectors, would be used to identify places and period of the year when the probability of parasite transmission is the highest; and therefore the places where the fight against the disease can be carried out first. The genetics of tsetse populations could help to identify populations that are isolated or not for their effective control. The transmission risk index TRI (r) of Laveissière *et al.* (1994), modified by Grébaut *et al.* (2004) was used to determine the risk levels of risk of transmission of the parasite (trypanosome) in the sleeping sickness foci of Bipindi Cameroon, while evaluating the influence of spatio-temporal parameters on this transmission. For this, two comparative studies were conducted during two different seasons (July and March). The gene flow within and between geographically separated populations of *Glossina palpalis palpalis* from Cameroon, the Democratic Republic of Congo (DRC) and Côte d'Ivoire has also been estimated. The demographic history of these populations has been determined, and the phylogenetic relationships between individuals of this subspecies have been assessed. These parameters being important in the establishment of effective control strategies for sleeping sickness. The value of haplotype diversity H in DRC was two times greater than the value obtained in Cameroon and three times the value observed in Ivory Coast. Nucleotide diversity π_n were six time smaller in Ivory Coast than in RDC and in Cameroon. A significantly higher density of *Glossina palpalis palpalis* was observed in July, but the highest infection rates were observed in March. Among the successfully identified blood meals, 66.7% came from humans and 33.3% from pigs. The highest transmission risk index was observed in the Lambi village. The assessment of the TRI shows that the risk was higher in July and near perennial water sources. The genetic analyses involved a total of 418 *Glossina palpalis palpalis*, of which 258 were sampled in Cameroon, precisely in Bipindi, Campo, Fontem and Bafia, 100 in Azaguié and Nagadoua in Ivory Coast and 60 from Malanga in the DRC. The variation at three concatenated mitochondrial markers namely COI, COII-TLII and 16S2 was examined. Thirty-four haplotypes were found, of which 30 were “rare”, since each was present in less than 5% of the total number of individuals. No haplotype were shared among Cameroon, Ivory Coast and DRC populations. The value of haplotype diversity H in DRC was two times greater than

the value obtained in Cameroon and three times greater than that observed in Côte d'Ivoire. Nucleotide diversity π_n were six times smaller in Ivory Coast than in the DRC and Cameroon. The fixation index F_{ST} of 0.88 showed a high genetic distance between *Glossina palpalis palpalis* populations from the three countries. That genetic distance was correlated to the geographic distance between populations. We also found that there is a substantial gene flow between tsetse flies from locations separated by over 100 km in Cameroon and between tsetse flies from locations separated by over 200 km in Ivory Coast. Demographic parameters suggest that the tsetse flies of Fontem (Cameroon) had reduced in population size in the recent past. Other Central African populations are made up of permanent large populations. In Ivory Coast population more investigations are required in order to better understand the demographic history of tsetse flies populations. Phylogenetic analysis confirms that *Glossina palpalis palpalis* originating from the Democratic Republic of Congo is genetically divergent from the two other countries as already published in previous studies.

Keywords: *Glossina palpalis palpalis*, Human African Trypanosomosis, Transmission Risk Index, mitochondrial markers, genetic differentiation, phylogeny.

INTRODUCTION

La Trypanosomose Humaine Africaine (THA), communément appelée maladie du sommeil, a été l'une des maladies les plus meurtrières dans de nombreux pays d'Afrique subsaharienne, au point de décimer des villages entiers en Afrique Centrale et Occidentale (Martin *et al.*, 1909 ; Steverding, 2008). La maladie est causée par des trypanosomes et est transmise aux hommes par des mouches tsé-tsé, qui sont des insectes diptères du genre *Glossina* Wiedemann, 1830.

Au cours de ces dernières décennies, des efforts considérables ont été déployés pour lutter contre cette maladie. Il s'est agi entre autres des interventions basées sur la détection et le traitement des malades, de la mise sur pied d'un traitement plus efficace que les précédents et des interventions au niveau du vecteur et des réservoirs de parasites. Ces efforts ont fait passer l'incidence annuelle de la THA de 45000 malades en 1999 (Cattand, 2001) à moins de 10000 cas en 2009 (Simarro *et al.*, 2010). En 2015, seulement 2804 cas ont été recensés. On estime cependant à 20000 le nombre réel de cas et à 65 millions le nombre de personnes exposées au risque de transmission de la maladie du sommeil (OMS, 2017). Malgré la réduction significative de l'incidence de la THA, la maladie demeure un problème de santé publique considérable.

Le succès de ce contrôle a néanmoins permis à l'OMS et aux pays dans lesquels cette maladie est endémique d'envisager son élimination en 2020 en tant que problème de santé publique et en 2030 la réduction à zéro de la transmission du parasite (OMS, 2013). Cependant, pour pouvoir atteindre ces objectifs, des efforts continus et innovants doivent être consentis, afin d'éviter la résurgence de la maladie dans la plupart des foyers endémiques ou des anciens foyers.

Avec l'absence d'un vaccin contre la THA, la toxicité de certains médicaments utilisés dans le traitement des malades, et l'existence d'un réservoir animal sauvage qui est difficilement accessible, la lutte anti-vectorielle reste la pierre angulaire dans la protection des humains contre l'acquisition de nouvelles infections (Solano *et al.*, 2010a). Ainsi, une connaissance approfondie de la biologie, de l'écologie et de la génétique des différentes espèces de glossines est importante pour le choix des meilleures stratégies de lutte anti-vectorielle. Les connaissances en entomologie et en écologie des espèces de glossines d'une localité particulière, grâce au calcul de l'indice de risque de transmission, serviraient par exemple à identifier les lieux et les périodes de l'année où la probabilité de la transmission du parasite est la plus élevée. C'est dans de telles zones que pourra s'effectuer prioritairement la lutte contre la maladie. De plus, la détermination de l'existence d'une structure génétique et l'évaluation du degré d'échange génétique aideraient à choisir des stratégies efficaces de contrôle des vecteurs

(Solano *et al.*, 2010b). Ici, deux stratégies de lutte anti-vectorielle intégrée ont été définies, suivant le statut « isolé » ou non des populations de tsé-tsé : l' « éradication » pour des populations complètement isolées des autres et la « suppression » pour des populations recevant des migrants (Solano *et al.*, 2010a). Un exemple est l'île Unguja du Zanzibar où des populations de glossines isolées ont été identifiées en raison de barrières physiques, dans lesquelles une éradication réussie des glossines a été effectuée (Vreysen *et al.*, 2000). Sur le continent cependant, les efforts pour éradiquer les glossines dans différents contextes ont généralement été infructueux du fait de leur grande capacité de dispersion, ce qui aurait facilité la recolonisation des zones traitées par les glossines des zones voisines ou par les glossines survivantes, suggérant la «suppression» comme meilleure stratégie de lutte anti-vectorielle dans ces localités (Solano *et al.*, 2010b).

Des études de génétique des populations de glossines utilisant des marqueurs moléculaires et principalement les microsatellites ont montré une structuration des populations continentales à l'échelle macro-géographique (Krafsur, 2002 ; Ouma *et al.*, 2005), et même à l'échelle micro-géographique (Solano *et al.*, 2000 ; Ravel *et al.*, 2007 ; Bouyer *et al.*, 2010 ; Mélachio *et al.*, 2015), mettant ainsi en évidence la présence dans une localité de plusieurs sous populations dans lesquelles les flux migratoires sont plus ou moins prononcés.

L'ADN mitochondrial (ADNmt) est depuis longtemps considéré comme un outil pour les études de génétique de la population (Castro *et al.*, 1998) et en particulier pour la phylogénétique (Avise, 1987 ; 2000) et les études des événements démographiques (Harpending, 1994 ; Avise, 1994). Bien que leur efficacité actuelle dans les études génétiques des populations soit controversée (Gerber *et al.*, 2001 ; Bazin *et al.*, 2006 ; Galtier *et al.*, 2009 ; Teske *et al.*, 2018), les marqueurs mitochondriaux sont toujours utilisés comme outil normalisé pour des études de taxonomie moléculaire et d'identification des espèces (Ratnasingham & Hebert, 2007). De plus, le polymorphisme des loci d'ADNmt peut être évalué par la technique du polymorphisme de conformation du simple brin (SSCP), qui est peu coûteuse et simple à réaliser (Bailey, 1995 ; Black & DuTeau, 1996 ; Sunnucks *et al.*, 2000). Les marqueurs mitochondriaux ont été largement utilisés pour étudier la diversité génétique, la différenciation des populations ou le flux génétique de différentes espèces de glossines en Afrique Orientale, Occidentale et Australe, y compris *Glossina palpalis gambiensis* (Marquez *et al.*, 2004), *Glossina morsitans* s.l. (Wohlford *et al.*, 1999 ; Krafsur *et al.*, 2001 ; Nakamura, 2019), *Glossina pallidipes* (Krafsur & Wohlford, 1999 ; Ouma *et al.*, 2011) et *Glossina fuscipes fuscipes* (Krafsur *et al.*, 2008 ; Beadell *et al.*, 2010 ; Kato *et al.*, 2015). A notre connaissance, aucune étude regroupant plusieurs sous-régions africaines, incluant l'Afrique Centrale n'a été

réalisée à l'aide de ces marqueurs. Pour combler cette lacune importante, des loci mitochondriaux ont été sélectionnés pour étudier la diversité génétique, la différenciation génétique, le flux génétique, l'histoire démographique et les relations phylogénétiques chez *Glossina palpalis palpalis* du Cameroun, de la RDC (Afrique Centrale), et de la Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest), afin d'améliorer les connaissances épidémiologiques et le contrôle des maladies à transmission vectorielle.

L'objectif général de ce travail est de caractériser génétiquement des populations de *Glossina palpalis palpalis* en vue d'améliorer les stratégies de lutte contre la maladie du sommeil.

Les objectifs spécifiques sont:

- ✓ de déterminer l'indice de risque de transmission du parasite dans un foyer de la maladie du sommeil, et les associations à différents génotypes de *Glossina palpalis palpalis* ;
- ✓ d'analyser la structure génétique de ces populations de glossines et leurs flux migratoires ;
- ✓ de déterminer les relations phylogénétiques entre les glossines des différentes populations ainsi que leur l'histoire démographique.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA MALADIE DU SOMMEIL

I-1. Glossine

I-1-1. Description

La glossine ou mouche tsé-tsé est un insecte responsable de la transmission des trypanosomes, causant la mort de nombreuses personnes et la perte de plusieurs animaux. La maladie est appelée chez l'homme la Trypanosomose Humaine Africaine (ou maladie du sommeil) et chez les animaux, elle prend le nom de Trypanosomose Animale Africaine. Les mouches tsé-tsé ont une couleur qui varie du brun au gris brun. Elles se reconnaissent aisément au repos par leurs ailes croisées sur le dos (figure 1) -ce qui les différencie rapidement des autres muscides-, et leur trompe proéminente située horizontalement dans le prolongement de la tête. Sans la trompe, elles ont de 6 à 16 mm de longueur. Le mâle est généralement plus petit que la femelle, et contrairement aux moustiques, ils se nourrissent tous deux du sang des vertébrés et sont donc des vecteurs.



Figure 1: Une glossine
(Source : Umr-intertryp.cirad.fr)

I-1-2. Taxonomie

Les glossines sont des insectes diptères cyclorraphes, appartenant à la famille des Glossinidae qui ne comporte qu'un seul genre, le genre *Glossina* Wiedemann, 1830 et une trentaine d'espèces et de sous-espèces. Seules quelques-unes transmettent effectivement le parasite responsable de la maladie chez l'homme (figure 2). Les espèces du genre *Glossina* sont aussi regroupées en trois sous-genres. Cette classification est justifiée par des caractéristiques communes dues à des analogies morphologiques, bioécologiques et même génétiques. On distingue ainsi :

- le sous-genre *Nemorhina* Robineau-Desvoidy, 1830 (groupe palpalis) ;
- le sous-genre *Glossina* s. str. (sensu stricto) Zumpt, 1935 (groupe morsitans) ;
- le sous-genre *Austenina* Townsend, 1921 (groupe fusca).

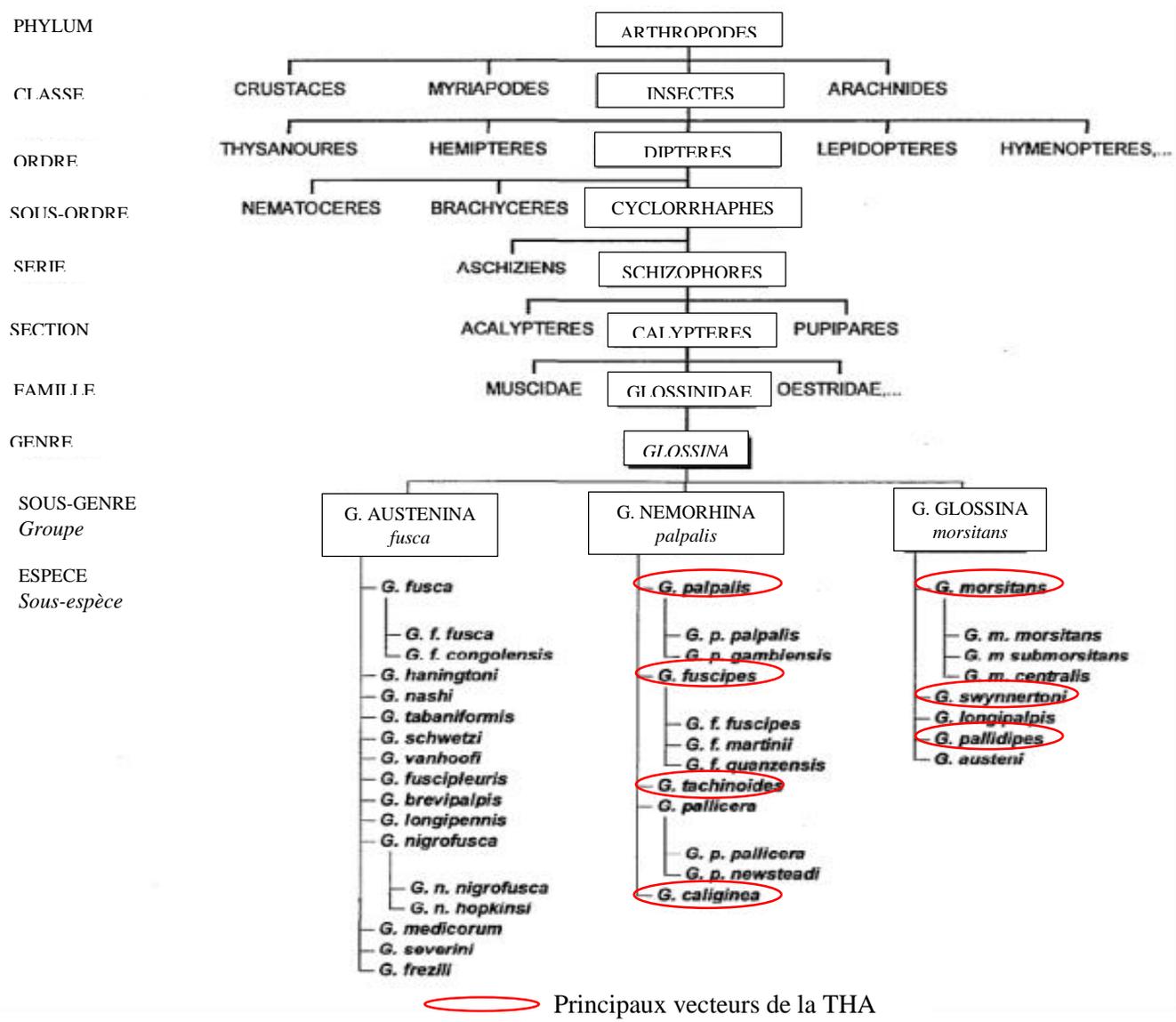


Figure 2 : Classification des glossines (Brunhes, 1998).

Des auteurs ont évoqué l'existence possible d'espèces cryptiques et proposé d'élever des sous-espèces au rang d'espèces, notamment en ce qui concerne *G. palpalis* s.l. (sensu lato) et *G. fuscipes* s.l., sur la base de différences morphologiques, génétiques et géographiques ou encore de la capacité vectorielle et d'une certaine stérilité chez les hybrides entre sous-espèces. Par exemple, l'espèce *G. palpalis* comporte les sous-espèces *G. palpalis palpalis*, et *G. palpalis gambiensis* (voir figure 2 : Classification des glossines à la page 7). Ces deux sous-espèces sont allopatriques, et aux frontières de leurs aires de répartition, elles s'hybrident sur une bande d'une dizaine de kilomètres (Van der Planck, 1949 ; Challier *et al.*, 1982). La F1 hétérogamétique (mâle) étant totalement stérile (Gooding, 1997 ; Orr, 1997), ce qui selon Bouyer (2006) devrait en faire deux espèces vraies, que l'on devrait appeler *G. palpalis* et *G. gambiensis*. Il est possible que sous les phénotypes « gambiensis » et « palpalis » se cachent encore d'autres espèces cryptiques, difficilement différenciables morphologiquement. Cette hypothèse est d'autant plus forte que des essais de croisement entre populations de *G. palpalis palpalis* originaires du bas-Zaïre (RDC) et du Nigeria ont également donné une descendance mâle stérile (Gooding *et al.*, 2004). De plus, des différences morphologiques au niveau de la tête ont été démontrées entre des souches de *G. palpalis palpalis* de Côte d'Ivoire et du Congo (Gouteux & Dagnogo, 1985).

Puisque les équipes de recherche qui s'intéressent à cette question sont peu nombreuses, il y a peu de chances que de grands changements interviennent dans les prochaines années, à moins que des outils novateurs fassent leur apparition et permettent de voir sous un jour nouveau les relations entre les espèces de tsé-tsé (OMS, 2013).

I-1-3. Distribution géographique

L'aire de répartition des glossines, qui couvre environ 10 millions de km², se limite à l'Afrique subsaharienne, au nord des déserts de la Namibie et du Kalahari. Elles sont absentes des îles situées à l'est du continent africain, sauf sur l'île d'Unguja au Zanzibar, où *Glossina austeni* Newstead, 1912 était présente mais a été éradiquée (Vreysen *et al.*, 2000). Quelques spécimens de *G. morsitans* Wiedemann, 1850 et *G. fuscipes* Newstead, 1911 ont été également dénombrés dans le sud-ouest de l'Arabie saoudite (Elsen *et al.*, 1990) (figure 3 a).

On retrouve les glossines entre les latitudes 15° nord et 29° sud (Penchenier & Laveissière, 2000), ceci du fait de leurs exigences en matière de température et d'humidité. En effet, des températures élevées s'ajoutant à la sécheresse et à l'absence de couverture végétale, rendent le nord inhospitalier pour la tsé-tsé. Au sud, les températures moyennes annuelles

inférieures à 20°C ne permettent pas leur installation. Il est à noter que leur répartition n'est pas uniforme au sein de l'aire d'extension, en effet, les glossines se concentrent dans des zones de particularités écologiques distinctes. On les trouve principalement dans la végétation au bord des cours d'eau et des lacs, des forêts et des vastes étendues de savane arbustive. Lorsque la température moyenne est trop élevée, les glossines se réfugient dans des zones localement plus fraîches où elles peuvent survivre, par exemple le long des berges fluviales que recouvrent les galeries forestières (figure 3 b). On ne les retrouve habituellement pas au-delà de 1200 mètres d'altitude.

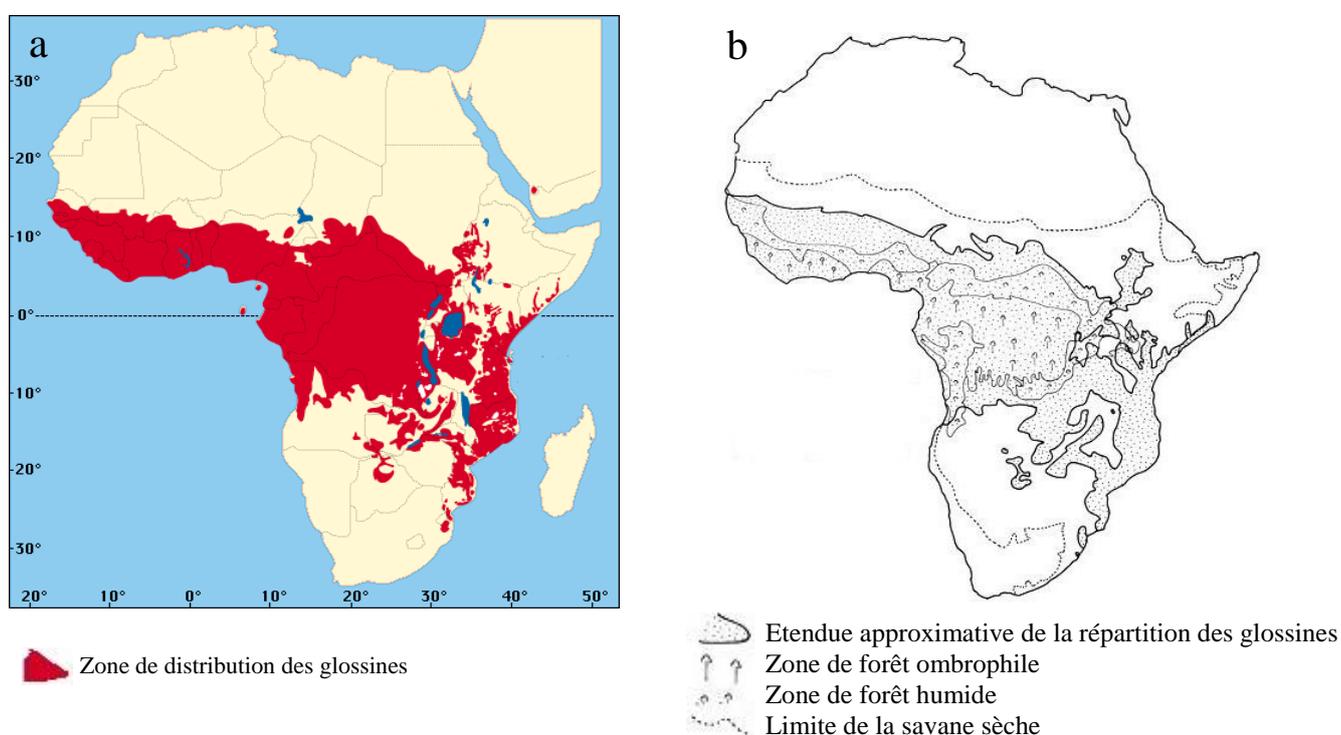


Figure 3 : (a) Distribution géographique des glossines en Afrique. (b) Distribution géographique des glossines intégrant le couvert végétal

(Source : <http://www.fao.org/docrep/009/p5178f/P5178F06.htm> . Consulté le 16-11-2017)

I-1-4. Biologie et cycle de développement

En général, les femelles vivent plus longtemps que les mâles. On a enregistré des survies de 12 mois au laboratoire, mais dans le milieu naturel, les glossines vivent rarement plus de 5 à 7 mois. La longévité varie en fonction de la saison : elle est optimale pendant la saison des pluies (4 à 5 mois), elle diminue lorsqu'il fait froid (3 à 4 mois) et elle est particulièrement brève en période de forte chaleur (1 à 2 mois). Les jeunes mouches tsé-tsé sont plus sensibles que les adultes aux effets nocifs de la rudesse des conditions climatiques et malgré une sex ratio

proche de 1 à la naissance, les femelles sont généralement plus nombreuses dans les populations en raison de leur plus grande longévité. La densité apparente des populations de glossine dépend de facteurs environnementaux biotiques et abiotiques ; elle varie beaucoup d'un lieu à l'autre et elle est principalement liée au taux d'éclosion des pupes et à la longévité des imagos, facteurs qui dépendent eux-mêmes des conditions climatiques et de la disponibilité des hôtes.

Les mouches tsé-tsé sont limitées aux vols courts (<5 min) et ne volent environ que 15 à 30 min par jour. Une population qui habite la savane peut avancer dans un habitat convenable à environ 7 km par an. Toutes les mouches tsé-tsé se reproduisent par la viviparité. Cette méthode de reproduction limite sévèrement la fécondité des mouches tsé-tsé, et bien que les mouches femelles aient une limite supérieure d'environ 20 descendants, les femelles ne produisent que 6 à 8 progénitures dans une colonie de laboratoire bien gérée.

L'accouplement se déroule vers le cinquième jour après émergence de l'imago. Les mâles peuvent s'accoupler environ 10 fois si les accouplements sont suffisamment espacés. L'accouplement est long (0,5 à 3 h) car pendant ce temps le mâle forme un spermatophore (une masse globuleuse et gélatineuse d'environ 500 µm contenant les spermatozoïdes) qu'il dépose au fond de l'utérus de la femelle. Une insémination est généralement suffisante pour permettre à celle-ci de produire des larves pendant plusieurs mois ; les spermatozoïdes pouvant survivre près de 200 jours dans les spermathèques. La femelle vivipare, pond vers le 18e jour, puis, presque tous les 11 jours après, une larve de troisième stade (L3) qui s'enfouit dans le sol et se transforme en puce (figure 4). La pupaison peut durer 20 à 80 jours suivant l'espèce de glossine, la température et l'humidité du sol. Après ce temps, l'imago émerge par une déchirure circulaire du purparium et s'envole à la recherche d'un hôte nourricier. Avant la prise du premier repas de sang, la glossine possède un corps mou parce que sa cuticule et ses muscles thoraciques ne sont pas encore solidifiés : elle est alors qualifiée de ténérale. Les jeunes mouches tsé-tsé qui viennent d'éclore n'ont guère de ressources à leur disposition. L'énergie qu'elles utilisent à ce moment provient des réserves lipidiques qu'elles possèdent depuis le stade larvaire et elles ont par conséquent tendance à se montrer moins sélectives quant au choix de l'hôte pour la prise de leur premier repas de sang que lors des repas ultérieurs. Un mâle prend en moyenne un repas de sang tous les 3 jours, à intervalles variables. La femelle prend généralement trois repas de sang importants pendant la gestation : un premier repas immédiatement avant la mue intra-utérine entre le deuxième et le troisième stade larvaire, un deuxième à un moment variable au cours de la gestation et un troisième immédiatement après la larviposition. Quel que soit son sexe, une glossine qui vient juste d'éclore prend son premier repas 12 à 24 h plus tard. De

récentes observations confirment que, contrairement à une hypothèse émise de longue date, les glossines peuvent être infectées à n'importe quel moment de leur vie par des trypanosomes si elles sont affamées (OMS, 2013).

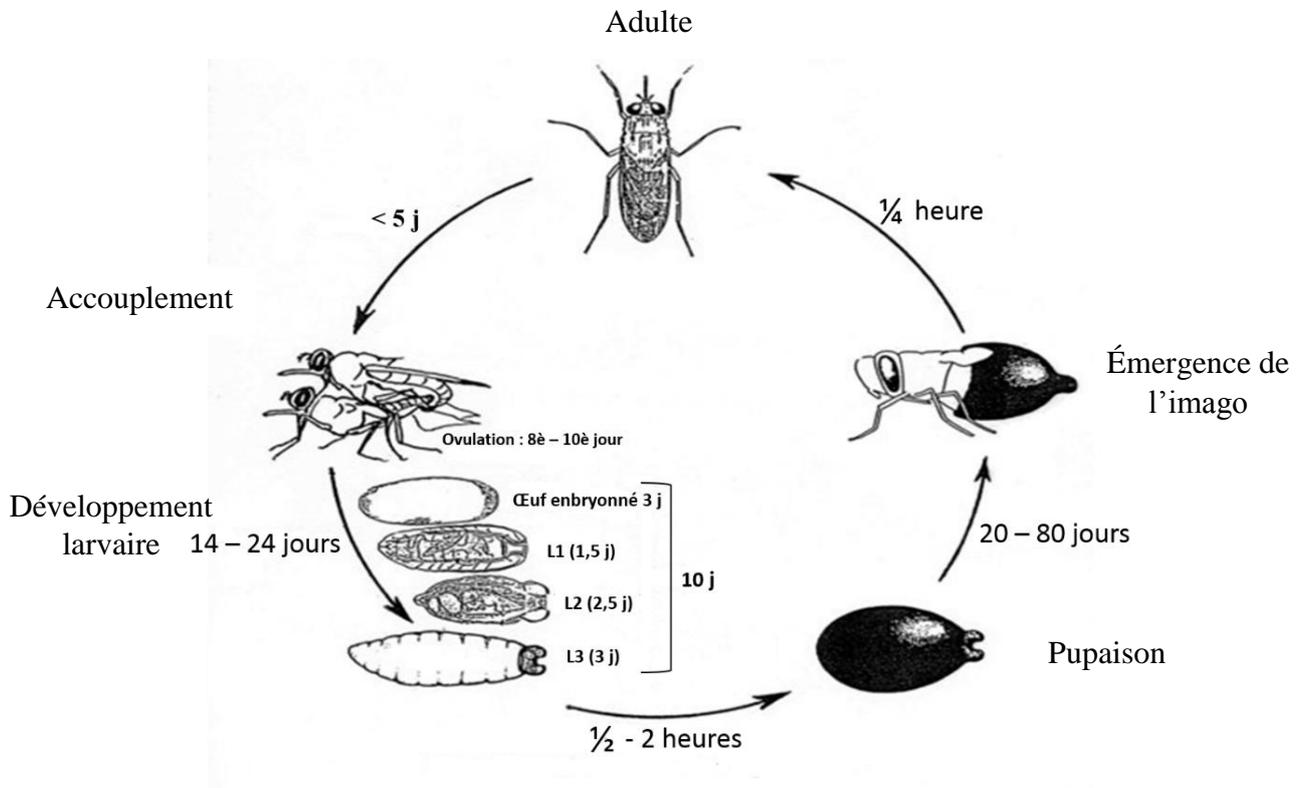


Figure 4 : Cycle de reproduction des glossines (Cuisance, 1989)

I-2. Trypanosome

I-2-1. Historique

La maladie du sommeil fut signalée pour la première fois en 1374 à l'occasion de la mort du sultan du Mali, suite à une longue maladie se terminant par un état de sommeil continu. C'est à partir de 1901 que le parasite responsable de la maladie est identifié dans le sang d'un patient en Gambie. Ce parasite est décrit et nommé *Trypanosoma gambiense*. Par la suite Castellani en 1903, rapporte la présence du trypanosome dans le liquide céphalo-rachidien. La même année, suspectant les mouches tsé-tsé d'être les vecteurs de cette maladie, David Bruce fournit la preuve expérimentale en transmettant des trypanosomes aux animaux par l'intermédiaire des glossines sauvages gorgées sur des « sommeilleux ». Les cas sévères de maladie du sommeil et d'évolution rapide vers la mort ont été signalés en Afrique de l'Est. En 1912, il est démontré que le trypanosome de cette forme dite « aiguë », diffère de *Trypanosoma*

gambiense et il est alors appelé *Trypanosoma rhodesiense* du fait de son origine, la Rhodésie (Penchenier & Laveissière, 2000).

I-2-2. Taxonomie

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés sanguicoles exo-érythrocytaires. On les retrouve dans le sang, la lymphe ou le système nerveux central (Penchenier & Laveissière, 2000). Ils appartiennent à la classe des Zoomastigophora Calkins, 1909, à l'ordre des Kinetoplastida Hönlberg, 1963, à la famille des Trypanosomatidae Döflein, 1901, au genre *Trypanosoma* Gruby, 1843 (figure 5). Les trypanosomes africains se rangent dans la section Salivaria du genre *Trypanosoma* et sont injectés dans le sang des mammifères par la piqûre de la glossine (ou d'autres mouches piqueuses dans le cas d'espèces de trypanosomes qui n'infectent pas l'espèce humaine). Ils se distinguent en cela des membres de la section Stercoraria à laquelle appartient le trypanosome américain, *T. cruzi* Chagas, 1909, qui est transmis dans les matières fécales du rédive. Il existe de nombreuses espèces de trypanosomes africains; toutefois, seuls ceux qui appartiennent au groupe *Trypanosoma brucei* Plimmer & Bradford, 1899 sont infectieux pour l'être humain.

L'espèce *T. brucei* comprend trois sous-espèces :

- *Trypanosoma brucei rhodesiense* parasite de l'homme, responsable de la maladie du sommeil à évolution aiguë en Afrique Orientale et Australe. Il est transmis par des mouches du groupe *Glossina morsitans* ;
- *Trypanosoma brucei gambiense* : parasite de l'homme, responsable de la maladie du sommeil à évolution chronique en Afrique Occidentale, Centrale et Australe. Ce parasite est transmis par des mouches du groupe *Glossina palpalis* ;
- *Trypanosoma brucei brucei* : responsable d'une maladie appelée « Nagana » chez les animaux domestiques et sauvages, mais pas pathogène pour l'homme. Il est transmis par les mouches du groupe *Glossina morsitans*.

Les espèces *T. vivax* (sous-genre *Duttonella*), *T. congolense* et *T. simiae* (sous-genre *Nannomonas*) sont également responsables de la trypanosomose animale. Ces espèces causent d'importants dégâts au sein du bétail.

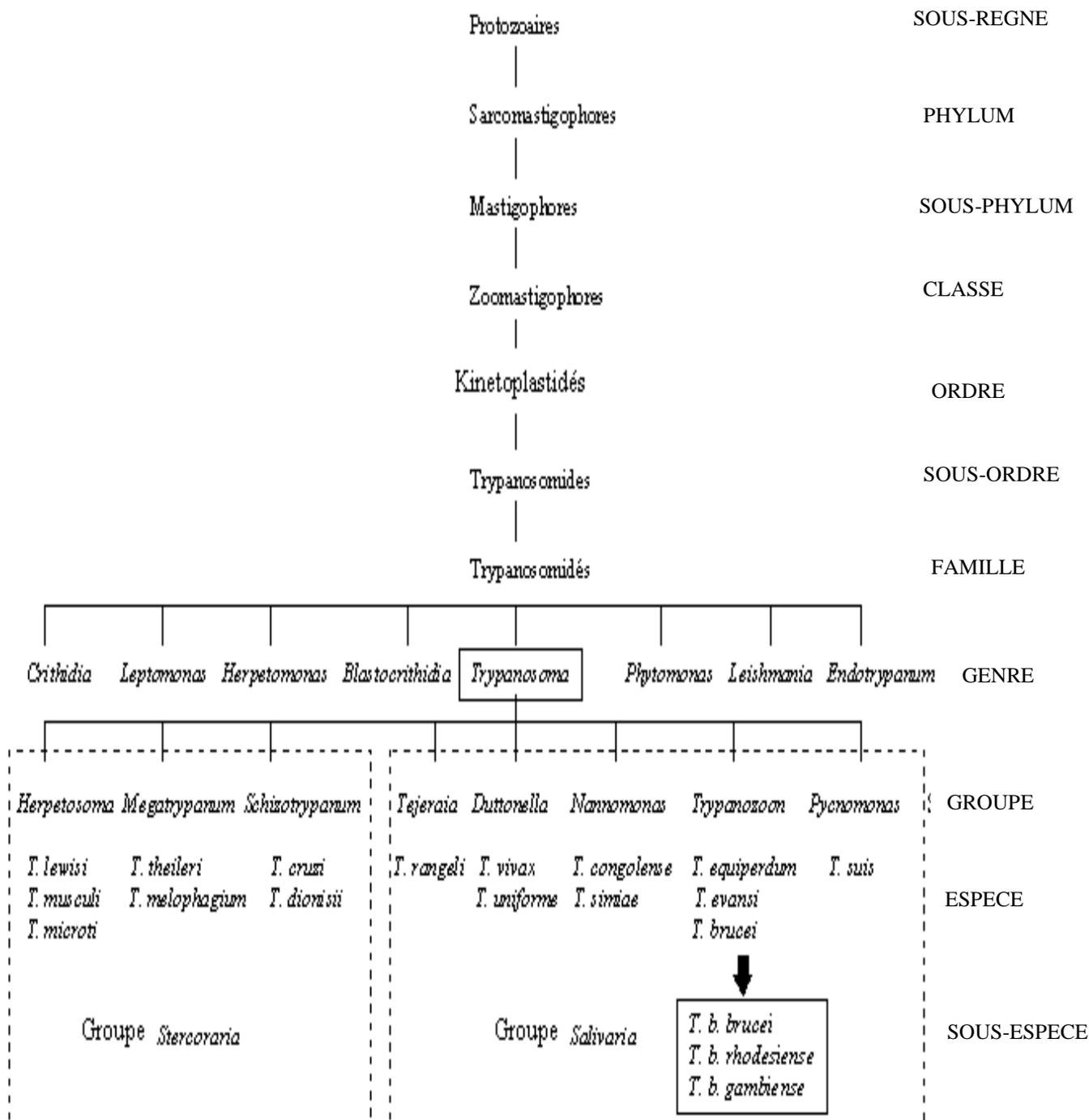


Figure 5 : Classification des trypanosomes (Hoare, 1972), modifié.

I-2-3. Description

Les trypanosomes africains ont une forme allongée, fusiforme, mesurant 20 à 30 μm de long sur 2 à 3 μm de large. Ils possèdent outre les constituants cellulaires classiques (noyau, cytoplasme, mitochondrie, ribosome), un organe particulier, le kinétoplaste, dont la fonction est analogue à celle des mitochondries et d'où part un flagelle. Ce flagelle sort de la cellule du trypanosome par son extrémité postérieure et lui reste fixé par la membrane ondulante (figure 6).

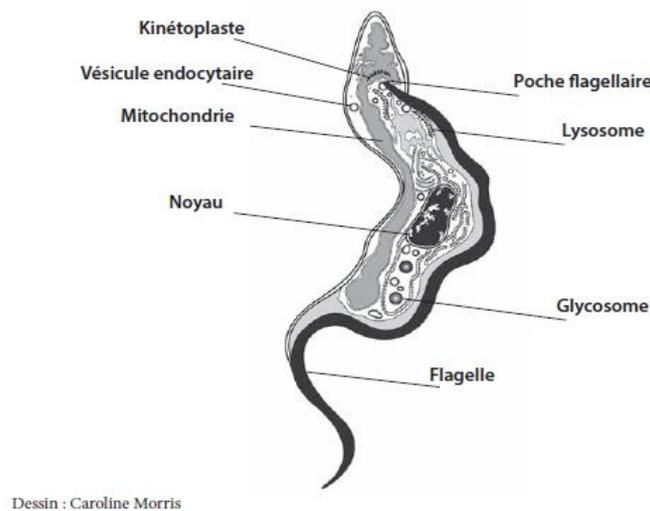


Figure 6 : Structure du trypanosome

On distingue plusieurs formes du parasite tant chez l'insecte vecteur que chez l'hôte vertébré :

Chez le vecteur

Chez la mouche tsé-tsé, les trypanosomes se présentent sous la forme procyclique (a) dans l'intestin moyen, épimastigote (b) dans le proventricule et trypomastigote métacyclique (c) dans les glandes salivaires (figure 7).

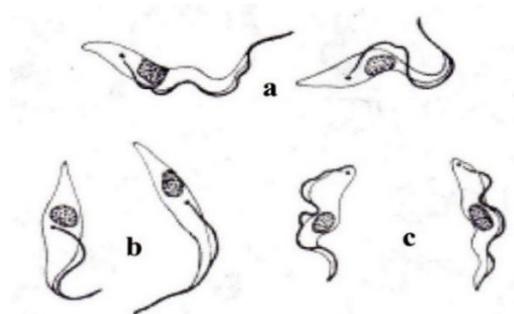


Figure 7 : Différentes formes de *T. brucei* s.l. chez la glossine
(Penchenier & Laveissière, 2000)

- La forme procyclique (**a**) où le trypanosome, allongé et à kinétoplaste situé à mi-chemin entre l'extrémité postérieure et le noyau, est dépourvu de son enveloppe glycoprotéique de surface.
- La forme épimastigote (**b**) où le trypanosome possède un flagelle allongé, une membrane ondulante courte, un kinétoplaste et un noyau juxtaposés.
- La forme métacyclique (**c**) où le trypanosome, sous forme infectante, possède un kinétoplaste situé derrière le noyau, une enveloppe glycoprotéique de surface mais est dépourvu de flagelle libre.

Chez l'hôte vertébré

Dans le sang de mammifères, les trypanosomes peuvent se présenter sous une forme grêle (a), intermédiaire (b) ou trapue (c) (figure 8).

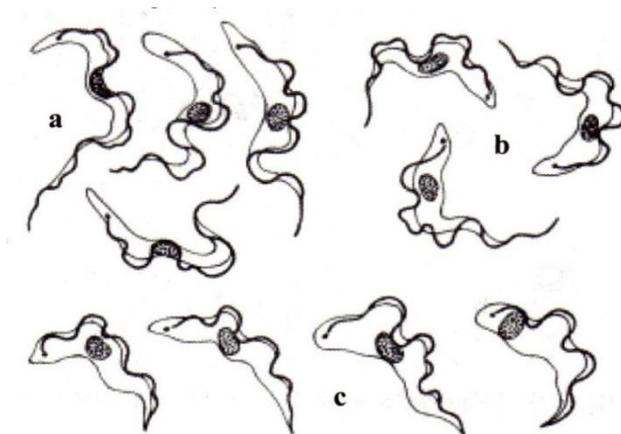


Figure 8 : Différentes formes des trypanosomes du sous-genre Trypanozoon
(Penchenier & Laveissière, 2000)

- La forme grêle ou allongée ou « Slender » (**a**) dont la taille moyenne, de 23 à 30 μm , peut dépasser 40 μm . Le trypanosome possède un flagelle libre, une membrane ondulante bien développée, un noyau et un kinétoplaste sub-terminal.
- La forme intermédiaire (**b**) où le trypanosome mesure 20 à 25 μm . Il possède un flagelle court, une extrémité postérieure plus arrondie et un kinétoplaste plus proche de l'extrémité antérieure que chez les formes allongées. C'est une forme de passage entre les formes allongées et les formes courtes.

- La forme trapue ou « Stumpy » (c) dont le trypanosome, court et massif, mesure 12 à 20 μm . Dépourvu de flagelle, il a un kinétoplaste plus proche de l'extrémité postérieure et un noyau arrondi.

I-2-4. Cycle évolutif

Le cycle évolutif commence par l'inoculation, lors de la piqûre d'une glossine, de formes métacycliques adaptées à la vie dans le courant sanguin (figure 9). Ces formes métacycliques se différencient en donnant naissance à des formes sanguicoles prolifératives longues et grêles, qui se multiplient activement par division binaire dans le sang et dans la lymphe. Les trypanosomes sous cette forme « slender » sont recouverts d'un manteau de glycoprotéines de surface variable, leur conférant une protection contre les anticorps de l'hôte. L'infection évolue le plus souvent par une succession de vagues parasitémiques séparées par des périodes de répit apparent, au cours desquelles l'organisme réduit plus ou moins totalement les parasites de la circulation sanguine. Chaque vague se caractérise par l'expression d'une glycoprotéine de surface variable différente à la surface membranaire des trypanosomes, leur permettant de déjouer régulièrement le système immunitaire de l'hôte infecté. C'est cette stratégie de variation antigénique qui rend difficile la mise sur pied d'un vaccin contre la maladie du sommeil. Les formes grêles se différencient également pour donner naissance à des formes trapues qui ne se reproduisent pas et sont déjà adaptées à l'environnement que va leur offrir la mouche tsé-tsé une fois que celle-ci les aura ingérées lors d'un repas de sang. Après un certain temps d'évolution, et par des mécanismes encore mal connus, certains trypanosomes traversent la barrière hémato-encéphalique pour envahir le système nerveux central, conduisant au deuxième stade de la maladie. Si une glossine se nourrit sur un individu porteur de trypanosomes, ceux-ci vont subir dans son intestin une série de transformations complexes nécessaires à l'adaptation à leur nouvel environnement. En effet, dans les 2-4 h qui suivent la prise du repas infectant, les trypanosomes se transforment en trypomastigotes procycliques exprimant à leur surface un nouveau manteau de glycoprotéines invariables, la procycline. Ces formes prolifèrent et colonisent l'intestin : c'est la phase d'établissement de l'infection. Au bout d'un certain temps, les formes procycliques arrêtent de se diviser et donnent d'autres formes qui vont aboutir finalement aux formes métacycliques dans les glandes salivaires.

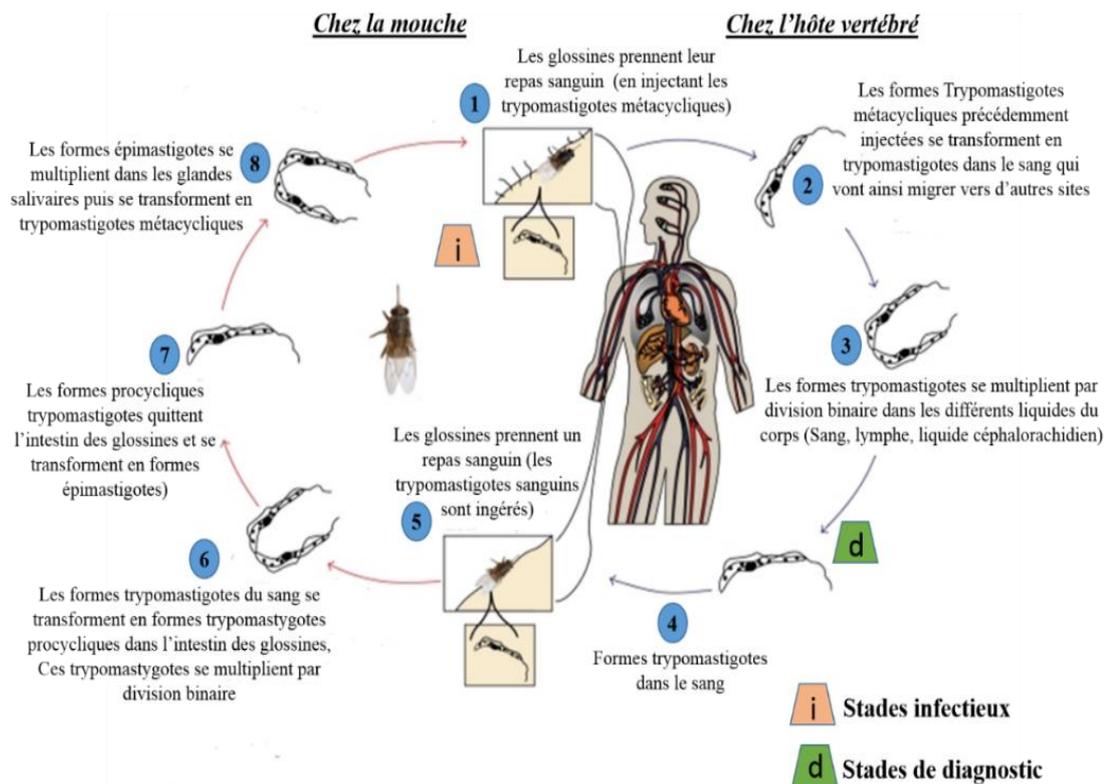


Figure 9 : Cycle évolutif des trypanosomes

(Source : <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/TrypanosomiasisAfrican.htm>. Consulté le 20-09-2018)

I-3. La Trypanosomose Humaine Africaine (THA)

I-3-1. Distribution de la maladie

La figure 10 représente la distribution des deux formes de la maladie :

- La forme dite aiguë, due à *Trypanosoma brucei rhodesiense*, se retrouve dans 13 pays d'Afrique Orientale et d'Afrique Australe. Aujourd'hui, cette forme représente moins de 3% des cas notifiés. Les premiers signes et symptômes s'observent au bout de quelques mois ou quelques semaines après l'infection. La maladie évolue rapidement et le parasite envahit le système nerveux central.
- La forme dite chronique, due à *T. brucei gambiense*, se retrouve dans 24 pays d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique Centrale. Cette forme représente actuellement plus de 97% des cas notifiés de maladie du sommeil. Une personne peut être infectée pendant des mois, voire des années sans présenter de signes ou de symptômes importants de la maladie.

Quand les symptômes surviennent, la maladie est souvent déjà à un stade avancé et le système nerveux central est atteint.

Les deux formes coexistent en Angola, au Kenya, en République Démocratique du Congo, en Ethiopie, au Soudan et en Ouganda, leur séparation se fait de part et d'autre de la vallée du Rift (Mulligan, 1970).

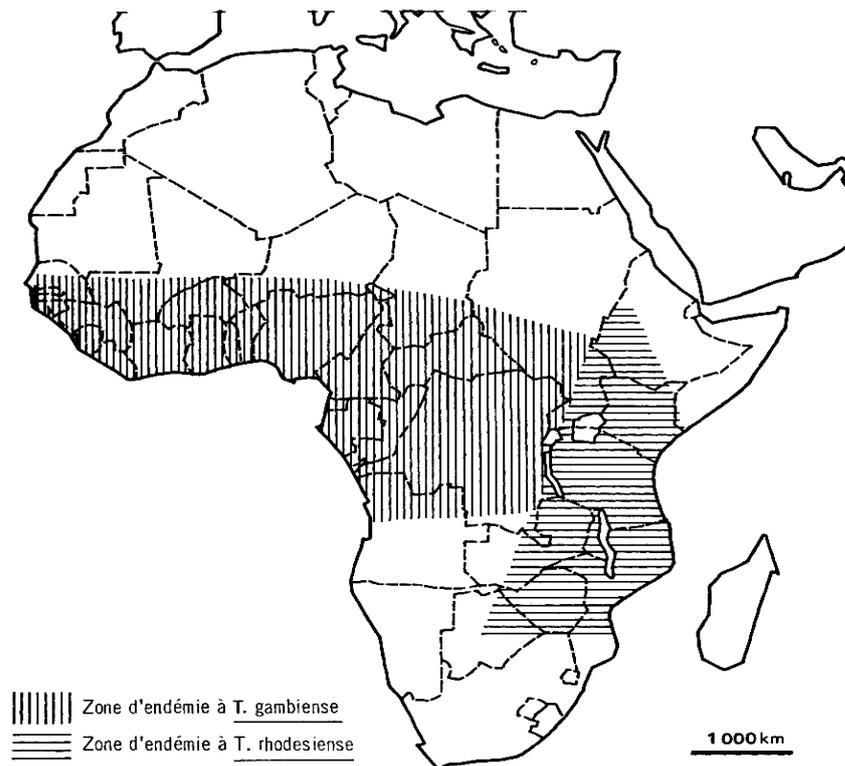


Figure 10 : Répartition des deux formes de trypanosomose humaine africaine (Gilles & Ricossé, 1982)

I-3-2. Situation épidémiologique de la THA

I-3-2-1. Les grandes épidémies humaines

L'Afrique a connu au siècle dernier plusieurs grandes épidémies:

- la première a eu lieu entre 1896 et 1906, principalement en Ouganda et dans le bassin du Congo;
- la deuxième a touché en 1920 plusieurs pays africains;
- et l'épidémie la plus récente est survenue en 1970 et a duré jusqu'à la fin des années 1990.

L'épidémie de 1920 a été combattue par des équipes mobiles qui ont organisé le dépistage chez des millions de personnes à risque. Vers le milieu des années 1960, la maladie

était sous contrôle avec moins de 5000 cas notifiés sur l'ensemble du continent. Après ce succès, la surveillance s'est relâchée et, en 1970, on a assisté à une résurgence de la maladie d'envergure épidémique dans plusieurs régions.

Les efforts conjugués de l'OMS, des programmes nationaux de lutte contre la maladie, de la coopération bilatérale et des ONG dans les années 1990 et au début du XXI^e siècle ont permis d'inverser la tendance.

I-3-2-2. Situation actuelle dans les pays d'endémie

Avec les efforts faits par les programmes de lutte contre les trypanosomoses, l'incidence annuelle de la THA est passée de 45000 malades en 1999 (Cattand, 2001) à moins de 10000 cas en 2009 (Simarro *et al.*, 2010). Entre 2010 et 2011, 6631 cas ont été notifiés (Simarro *et al.*, 2013) et en 2015, 2804 cas. Mais ce nombre ne reflète pas la réalité du fait de l'absence ou de l'insuffisance de dépistage dans de nombreux foyers. On estime cependant à 20 000 le nombre réel de cas et à 65 millions le nombre de personnes exposées au risque de transmission du parasite (OMS, 2017). Comme le nombre des nouveaux cas de trypanosomiase humaine africaine notifiés entre 2000 et 2012 a baissé de 73%, la feuille de route de l'OMS pour les maladies tropicales négligées prévoit de parvenir à éliminer cette maladie en tant que problème de santé publique d'ici 2020 (OMS, 2013).

Il est à noter que la maladie touche les pays de façon hétérogène : les foyers sont généralement dispersés et le niveau d'endémicité peut varier considérablement d'un foyer à l'autre, et même au sein d'un foyer, d'une zone à l'autre. On distingue les foyers résiduels où le nombre de cas reste faible et constant pendant de longues périodes (situation endémique) et les foyers en activité où le nombre de cas augmente de façon considérable (situation épidémique). Dans l'espace géographique appelé Afrique Centrale, on compte quatre pays dans lesquels la THA est un problème majeur (Soudan, Ouganda, Angola et République Démocratique du Congo qui à elle seule a concentré 84% des cas signalés en 2015) et six pays (Cameroun, République Centrafricaine, Guinée Equatoriale, République populaire du Congo, Gabon et Tchad) où la situation est de type hypo ou méso-endémique. Si de nombreux foyers historiques semblent actuellement « éteints » dans quelques pays (Sénégal, Togo, Burkina-Faso) d'Afrique Occidentale, quelques cas ont été répertoriés au Bénin et au Mali, et deux sont considérés comme les plus atteints par l'endémie : la Côte d'Ivoire et la Guinée Conakry.

Au Cameroun, il existait au début du 20^e siècle plusieurs foyers actifs de la THA regroupés dans 4 grandes régions géographiques : les foyers de l'Ouest (Fontem, Mamfé et Plaine des Mbos), les foyers côtiers (Douala et Campo), les foyers de l'Est (Bafia et le bassin du Nyong ;

Doumé, Abong-Bang, Lomié,) et les foyers du Nord (Logone et Chari). Actuellement les principaux foyers sont ceux de Campo, Bipindi, Fontem, Doumé et Mamfé.

I-3-3. Transmission de la maladie et facteurs de risque d'infection

Bien que le mode de transmission prédominant soit vectoriel, il existe des cas de transmission congénitale de *Trypanosoma brucei gambiense*. Celui-ci pouvant franchir la barrière placentaire et infecter le fœtus (Lindner & Priotto, 2010). La transmission mécanique par d'autres insectes hématophages est possible. Toutefois, il est difficile d'évaluer l'impact épidémiologique de cette transmission. Des infections se sont produites en laboratoire par piqûre accidentelle avec des aiguilles contaminées. La transmission du parasite par contact sexuel a également été reportée (Rocha *et al.*, 2004).

Dans le cas de la transmission vectorielle, c'est chez les glossines nouvellement écloses prenant leur premier repas de sang -les glossines dites ténérales- que le risque d'être infectées est maximal (Welburn & Maudlin, 1992). Une fois infectée, une glossine le reste pour toute sa vie. Les trypanosomes sont transmis à des sujets humains par la piqûre de ces mouches infectées. Toute personne vivant, travaillant ou circulant dans une zone à risque est susceptible d'être infectée, une seule piqûre d'une glossine infectée suffit. Cependant nombre de facteurs influent sur le taux de transmission. En ce qui concerne la glossine, ce sont notamment la compétence vectorielle, la proportion de repas de sang pris sur des sujets humains, la longévité, la dispersion. En ce qui concerne l'être humain, ce sont le lieu de résidence, les caractéristiques environnementales, et les types d'activités professionnelles. Comme des animaux sauvages et domestiques constituent un réservoir pour le parasite, le fait pour l'homme de se trouver à proximité d'habitats qui sont communs à ces animaux et aux glossines constitue un facteur de risque. En zone de savane les sites à risque sont surtout des galeries forestières, principalement les points fréquentés en permanence par les populations humaines. On peut citer entre autres, les zones de baignades, les points utilisés par les femmes pour leurs activités ménagères, les endroits où les pêcheurs accostent leurs pirogues et réparent leurs filets. Il y a aussi les points de passage tels que les gués et les ponts. En zone de forêt, on peut considérer de manière générale que la transmission peut se faire partout, à l'exception de la grande forêt ombrophile que les glossines d'intérêt médical n'ont pas colonisée. La forêt dégradée n'est en fait qu'un immense gîte à mouches tsé-tsé, comme l'homme y circule, y cultive, y vit, le contact entre lui et le vecteur peut avoir lieu partout.

I-3-4. Manifestations cliniques

La THA non traitée, aboutit inéluctablement à la mort dans des délais variables selon qu'elle est due à *Trypanosoma brucei gambiense* ou à *T. b. rhodesiense*. Les symptômes de la maladie varient selon l'évolution du parasite dans l'organisme :

- Inoculation

La présence des trypanosomes au point de piqûre provoque un chancre dit « chancre d'inoculation » ou « trypanome ». C'est une sorte de furoncle douloureux qui ne dure que quelques jours, puis les parasites passent dans le sang et la lymphe. En pratique, du fait des nombreuses agressions cutanées auxquelles sont soumises les populations africaines, ce chancre passe le plus souvent inaperçu.

- Phase lymphatico-sanguine

Encore appelée phase de généralisation ou première période, elle correspond à une multiplication active des trypanosomes dans le sang et le système lymphatico-sanguin. Elle se manifeste par des accès de fièvre, des céphalées, la présence des ganglions palpables (adénopathies), une hypertrophie de la rate et du foie (spléno-hépatomégalie), et des signes cutanés (trypanides et œdèmes).

- Phase méningo-encéphalitique

C'est la phase de polarisation cérébrale ou deuxième période. Elle correspond au passage des trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien. Cette phase est caractérisée par une inflammation du cerveau appelée encéphalite, des troubles généraux du système nerveux (troubles psychiques, sensitifs, neuroendocriniens) et des troubles du sommeil (sommolence diurne, insomnie nocturne). L'évolution en absence de traitement conduit à la cachexie dite sommeilleuse, à l'origine du nom de la maladie ; le malade s'affaiblit, maigrit, sombre dans le coma et meurt.

I-3-5. Lutte contre la maladie

La lutte contre la maladie du sommeil a pour objectif général de réduire la morbidité et la mortalité liées à l'affection. Elle doit permettre, par le recensement et le traitement des malades, d'éviter la propagation de la THA aux régions voisines ou aux pays voisins, et par la lutte contre le vecteur, empêcher la transmission des trypanosomes à l'homme et aux animaux (Penchenier & Laveissière, 2000).

I-3-5-1. Dépistage de la maladie du sommeil

Il constitue une phase importante dans l'assainissement du réservoir humain de la maladie. Il permet de présélectionner les personnes suspectes sur lesquelles sera réalisé le diagnostic de certitude. Jadis basé uniquement sur les signes cliniques malheureusement atypiques et non constants (Eyckmans, 1989), il est actuellement complété par des tests immunologiques qui permettent de mettre en évidence soit des antigènes solubles du parasite, soit des anticorps dirigés contre les antigènes de surface des trypanosomes. En ce qui concerne la forme aiguë de la maladie, l'évolution est très rapide et la parasitémie est généralement très élevée, ce qui facilite la mise en évidence du parasite par examen direct sans la réalisation préalable des tests de dépistage. Concernant la forme chronique, de nombreux tests de détection d'antigènes circulants ont été mis au point : il s'agit par exemple du test ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), et du test indirect d'agglutination sur carte ou CIATT. A cause de la faible sensibilité de ces méthodes, des méthodes de détection d'anticorps spécifiques comme l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'ELISA indirecte, le test d'agglutination sur carte (CATT) et ses variantes (CATT-Latex et micro-CATT) ont été mis sur pied (Magnus *et al.*, 1978). Le test CATT représente la technique la plus utilisée pour le dépistage de masse de la maladie du sommeil. Il permet de mettre en évidence les anticorps anti-*Trypanosoma brucei gambiense* présents dans différents liquides biologiques de l'homme. Il se fait généralement à partir du sang total, mais peut aussi se faire à partir du sérum, de la lymphe ou du liquide céphalo-rachidien (LCR). Il connaît néanmoins des problèmes de sensibilité liés à l'absence du variant antigénique Litat-1.3 chez certaines souches de *Trypanosoma brucei gambiense* et de spécificité liés à la présence de ce variant chez quelques trypanosomes d'animaux (Noireau *et al.*, 1986 ; Asonganyi & Ade, 1994).

I-3-5-2. Diagnostic de certitude

Il n'est effectué que chez les suspects positifs en sérologie et permet de mettre en évidence le parasite. Il peut se faire à partir du sang total, du suc ganglionnaire en cas d'adénopathies ou du liquide céphalorachidien (LCR). L'examen du LCR permet de déterminer la phase de la maladie.

En cas d'adénopathies cervicales, la recherche des trypanosomes dans la lymphe se fait par examen direct de ce liquide entre lame et lamelle au microscope optique et au grossissement 400X. La sensibilité de cette technique est de 10000 trypanosomes/ml.

La recherche des trypanosomes dans le sang se fait par examen au microscope du frottis sanguin ou de la goutte épaisse. La sensibilité de détection est de 5000 trypanosomes/ml pour la goutte épaisse et 8000 trypanosomes/ml pour le frottis (OMS, 1986).

Dans la forme chronique de la maladie du sommeil, les techniques d'observation sur lame se sont avérées peu efficaces, étant donné que la parasitémie est généralement très faible chez les patients. Pour faire face à ce problème, plusieurs techniques de concentration des parasites ont été développées afin d'optimiser leur identification. On a principalement : la centrifugation en tubes capillaires (CTC) (Woo, 1970), la filtration sur colonne échangeuse d'ions (mini-Anion Exchange Centrifugation Technique", mAECT) (Lanham & Godfrey, 1970 ; Lumsden *et al.*, 1979) et le Quantitative Buffy Coat (QBC) (Bailey & Smith, 1992). Des techniques de culture « in vivo » sur des rongeurs ou « in vitro » (Kit for In Vitro Isolation, KiVI) (Aerts *et al.*, 1992) sont aussi utilisées en diagnostic, ces techniques d'inoculation permettent aussi l'isolement des souches de trypanosomes. Des techniques de diagnostic moléculaire indirectes basées sur la détection d'ADN spécifique du trypanosome ont été par la suite développées (Kabiri *et al.*, 1999 ; Penchenier & Laveissière, 2000). Ces techniques sont difficiles à réaliser, onéreuses pour les laboratoires peu équipés et en même temps, non réalisables sur le terrain. En plus, après leur réalisation au laboratoire, il y a la contrainte de retourner sur le terrain, rechercher les personnes dont les résultats ont été positifs, afin de leur administrer le traitement requis.

Lors du dépistage de masse sur le terrain, la rapidité du test et la facilité d'emploi sont des facteurs importants à prendre en compte. Parmi les méthodes de concentration, la technique la plus utilisée pour le diagnostic de masse de la THA à *Trypanosoma brucei gambiense* est la centrifugation du sang dans un tube capillaire (CTC). Cette technique utilise le gradient de densité des cellules sanguines pour concentrer les trypanosomes au niveau de l'interface plasma/hématies ou « buffy coat » (région où les parasites sont les plus abondants). Elle est utilisée en routine par les programmes nationaux de lutte contre la THA et exige un personnel qualifié et expérimenté.

Au laboratoire et dans les conditions de terrain, la mAECT semble offrir de meilleurs résultats en termes de sensibilité (Dukes *et al.*, 1984 ; Truc *et al.*, 1998), mais cette technique est plus laborieuse que la CTC.

I-3-5-3. Diagnostic de phase et traitement de la THA

Il permet de déterminer à quelle période de la maladie se trouve un patient et donc quel traitement administrer à ce dernier. Un malade est en première période lorsque les trypanosomes

sont présents dans son système lymphatico-sanguin et sont absents du LCR. Dans le cas contraire, il est en deuxième période. Le diagnostic de phase consiste donc à rechercher des trypanosomes dans le LCR après une ponction lombaire, à l'aide des techniques de la microscopie. Si le parasite ne peut y être décelé, la décision thérapeutique peut être prise sur la base des éléments indirects comme le taux d'albumine (protéïnorachie) ou le nombre de cellules dans le LCR (cytorachie). D'après l'OMS (1998), les critères qui caractérisent la deuxième période sont une cytorachie supérieure à 5 éléments/ μ l et/ou une protéïnorachie supérieure à 37 mg/100ml. L'obtention d'un résultat supérieur ou égal à ces valeurs seuils, avec ou sans mise en évidence de trypanosomes, indique que le malade se trouve en deuxième période.

Les médicaments utilisés au cours de la première phase étant moins toxiques et plus faciles à administrer, plus le diagnostic est précoce, plus les perspectives de guérison sont bonnes. Le succès du traitement au cours de la seconde phase dépend de l'utilisation d'un médicament capable de franchir la barrière hémato-encéphalique pour atteindre le parasite. De tels produits sont toxiques et plus délicats à administrer. Aucun vaccin efficace n'a encore été officiellement mis au point jusqu'à nos jours à cause du mécanisme de variation antigénique qui permet au trypanosome de détourner le système immunitaire de l'hôte.

Cinq médicaments sont homologués par l'OMS pour le traitement de la maladie :

- La pentamidine (Lomidine[®]), découverte en 1941, elle est utilisée pour le traitement des sujets en première période de la trypanosomiase à *T. b. gambiense*. Ce médicament est administré par voie intramusculaire. Il peut aussi être utilisé en deuxième période précoce. Malgré quelques effets indésirables, ce produit est généralement bien toléré.
- La suramine, découverte en 1921, est utilisée pour le traitement des malades de la première phase de la trypanosomiase à *T. b. rhodesiense*. Elle est responsable de quelques effets indésirables et allergies au niveau des voies urinaires.
- Le mélarsoprol (Arsobal[®]), découvert en 1949, est un traitement de deuxième période utilisé contre les cas de maladie provoqués par *T. b. rhodesiense* et *T. b. gambiense*. Il s'agit d'un dérivé arsenical, qui a de nombreux effets indésirables. Le plus grave est l'encéphalopathie réactive qui est mortelle dans 3 à 10% des cas. On observe une résistance accrue à ce médicament dans plusieurs foyers, notamment en Afrique Centrale.
- L'alpha difluoro-méthyl-ornithine(DFMO) (Eflornithine[®]), homologué en 1990, représente une alternative au traitement par le mélarsoprol, mais uniquement pour *T. b. gambiense*. Cependant, son schéma d'administration est strict et difficile à appliquer.

- Un traitement associé de nifurtimox et d'éflornithine a récemment été introduit (2009). Son administration est plus simple que l'éflornithine en monothérapie, mais malheureusement, il n'est pas efficace contre la trypanosomiase à *T. b. rhodesiense*. Le nifurtimox est homologué pour le traitement de la trypanosomiase américaine mais non pour la trypanosomiase humaine africaine. Néanmoins, après l'obtention par des essais cliniques de données relatives à l'innocuité et à l'efficacité, son utilisation en association avec l'éflornithine a été acceptée et figure désormais sur la liste OMS des médicaments essentiels.

Des travaux expérimentaux sont réalisés dans la recherche des molécules qui pourraient efficacement traiter les patients. Le stérol 14-alpha-demethylase (CYP51) des trypanosomes est une cible potentielle pour le posaconazole. Ce dernier médicament a donné des résultats encourageants sur les souris infectées au laboratoire par *Trypanosoma brucei brucei* (Dauchy *et al.*, 2016).

I-3-5-4. Méthodes de lutte contre les glossines

La lutte anti-vectorielle est une méthode alternative de lutte contre la maladie du sommeil, elle constitue pour l'instant l'un des meilleurs moyens d'interrompre la transmission des parasites entre les différents hôtes vertébrés. L'objectif étant soit d'éliminer toutes les glossines de la zone concernée (l' « éradication »), soit de diminuer la densité des glossines en deçà d'un certain seuil, qui minimise le risque de transmission du parasite à l'homme (la « suppression ») (Solano *et al.*, 2010b). L'éradication ne peut être envisagée que lorsque la population de glossines est complètement isolée des autres populations environnantes et ne présente aucun risque de rétablissement par ré-invasion. Si la population de glossines concernée n'est pas isolée et reçoit régulièrement des migrants venant des populations voisines, alors ce flux migratoire entrant est capable de rétablir la densité initiale des glossines après un certain temps. Dans ce cas, la stratégie de lutte anti-vectorielle à mettre sur pied est la « suppression ».

Plusieurs outils de lutte contre les glossines ont été développés au fil du temps, cependant les points essentiels à prendre en compte lors du choix d'une méthode de lutte sont : sa validité technique, son coût et son impact sur l'environnement.

- ✓ Destruction de la végétation

Roubaud propose en 1909 les éclaircissements forestiers. Cette idée est reprise par Nash et visait à débroussailler et déboiser afin de détruire l'environnement du vecteur. Les feux de brousse ont même été utilisés. Toutes ces techniques seront abandonnées, car non seulement la

prévention de la repousse de la végétation nécessite des efforts continus, mais aussi, le déboisement de la végétation est devenu un problème environnemental puisqu'il favorise l'augmentation de la quantité de CO₂ dans l'atmosphère qui conduit au réchauffement climatique.

✓ Elimination des hôtes sauvages

Une technique antérieure impliquait l'abattage de tous les animaux sauvages sur lesquels la tsé-tsé se nourrissait (Hocking *et al.*, 1963 ; Jordan, 1986). Par exemple, l'île de Principé au large de la côte ouest de l'Afrique a été entièrement débarrassée de porcs sauvages dans les années 1930 ce qui a conduit à la disparition de la glossine. Dans les années 1950, la mouche tsé-tsé a été réinvestie, mais cette nouvelle population de tsé-tsé était indemne de parasite. Cependant, même si l'élimination des animaux sauvages est limitée aux espèces hôtes, cela n'est pas facile à réaliser, d'autant plus que la mouche tsé-tsé ne dépend pas rigoureusement d'espèces animales spécifiques : lorsque les hôtes préférés disparaissent, elle peut se nourrir sur d'autres espèces. En outre, en raison de la préoccupation croissante pour la protection de la faune sauvage, le contrôle de la mouche tsé-tsé par l'élimination sélective des animaux sauvages n'est plus recommandé.

✓ Utilisation des pesticides

Les pesticides ont été utilisés pour lutter contre les mouches tsé-tsé, par pulvérisation de leurs sites de repos. Au début du vingtième siècle, les efforts étaient localisés en utilisant les pesticides inorganiques à base de métaux. La technique s'est développée après la seconde guerre mondiale en campagnes aériennes et terrestres massives utilisant les premiers pesticides organiques tels que le DDT (Dichloro-Diphényl-Trichloréthane). Les pesticides ont largement été utilisés pour contenir les populations de glossines dans de nombreux pays comme le Botswana, le Kenya, le Nigéria, la Somalie, la Zambie et le Zimbabwe. Au Nigeria, entre 1955 et 1978, environ 200 000 km² de territoire ont été débarrassés des glossines par l'épandage au sol de 570 tonnes de DDT, de 176 tonnes de dieldrine et de 77 tonnes d'endosulfan (Jordan, 1986). Ce secteur est resté par la suite exempt de mouches tsé-tsé, toutefois, il y a eu ré-invasion des zones nettoyées. Si la pulvérisation d'insecticides est facile par voie aérienne en zone de savane avec l'utilisation d'aéronefs ou d'hélicoptères, il n'en est pas de même pour la zone forestière; une pulvérisation au sol est requise dans ce cas, ce qui nécessite d'énormes moyens humains. De plus, les insecticides ne sont pas spécifiques à une espèce et peuvent donc affecter d'autres arthropodes non pathogènes.

✓ Piégeage

Le piégeage a débuté avec le port par des hommes des écrans de Maldonado, qui sont des dossards noirs enduits de glu. Plus tard, l'utilisation des pièges fixes est proposée, le premier modèle est conçu par Harris en 1930. Cette technique de lutte a été abandonnée au profit des insecticides tels que le DDT. En 1978, la lutte par piégeage est remise à jour, en raison des inquiétudes que le traitement par DDT suscitait pour l'environnement. On s'est donc tourné vers des techniques plus simples, moins coûteuses et moins dommageables pour combattre les mouches tsé-tsé. Si ces techniques ont suscité de l'intérêt, c'est aussi parce qu'on a observé que la pose de quelques pièges par kilomètre carré suffisait pour réduire considérablement les densités des populations de glossines, en raison de leur faible taux de reproduction. Plusieurs modèles de pièges sont proposés et utilisés, notamment les écrans et les pièges biconiques (Challier & Laveissière, 1973), les pièges pyramidaux (Gouteux & Lancien, 1986), les pièges Vavoua (Laveissière & Grebaut, 1990), et les pièges Lancien (Lancien, 1981).

Les pièges sont des enceintes en tissu, composées de couleurs attractives (bleu et noir) et favorisant la pénétration des tsé-tsé par des ouvertures basses ou latérales. Une fois au contact du piège, les insectes sont guidés vers la partie haute laissant passer la lumière et munie d'un dispositif anti-retour. Ils se retrouvent donc emprisonnés au sommet dans une poche de collecte appelée « manchon ». Cette cage est obsolète dans le cas des pièges imprégnés d'insecticides (Challier & Laveissière, 1973 ; Laveissière & Couret, 1980 ; Laveissière & Grébaut 1990).

Les écrans sont constitués d'un simple pan de tissu imprégné d'insecticide qui tue les glossines, une fois qu'elles se posent dessus (Céné *et al.*, 2005). Une version plus économique de ces écrans a été récemment mise au point, les « tiny targets » (Rayaisse *et al.*, 2011 ; Esterhuizen *et al.*, 2011). Les écrans sont plus faciles à utiliser car ils sont plus facilement transportés et imprégnés d'insecticides, et sont donc mieux utilisables dans la lutte contre la mouche tsé-tsé au sein de la population locale, tandis que les pièges sont plus efficaces pour capturer les glossines, en particulier pour les études épidémiologiques.

L'utilisation de produits chimiques comme attractifs pour attirer la mouche tsé-tsé aux pièges a fait l'objet d'études approfondies à la fin du XXe siècle. Les attractifs étudiés ont été ceux que la tsé-tsé pourrait utiliser pour trouver de la nourriture, comme le dioxyde de carbone, l'octénol et l'acétone - qui sont rejetés dans l'haleine des animaux. Les versions synthétiques de ces produits chimiques peuvent créer des odeurs artificielles. Une approche moins coûteuse

consiste à placer l'urine de bétail près du piège. Pour de grands efforts de piégeage, les pièges supplémentaires sont généralement moins chers que les attractifs artificiels coûteux.

Outre leur rôle dans l'élimination des glossines, les pièges peuvent permettre le suivi des densités de ces dernières, paramètre fondamental de l'étude de leur distribution et de leur écologie, mais aussi de l'impact de la lutte anti-vectorielle. Leur principal défaut c'est qu'ils sont immobiles et donc capables d'attirer une partie seulement de la population, même si ce fait est modéré par la dispersion des glossines.

✓ Appâts vivants

Des animaux sur lesquels on a pulvérisé un insecticide peuvent constituer des appâts mobiles sur lesquels les mouches tsé-tsé vont venir s'imprégner de l'insecticide. L'insecticide peut être appliqué sur l'animal en versant le produit sur son dos ou ses flancs en formant une mince bande. Ce dernier type de traitement cutané est efficace mais seulement si l'on traite un nombre suffisant de bestiaux pour supprimer suffisamment de mouches tsé-tsé, sinon, le taux de destruction risque d'être trop faible. Cette méthode est coûteuse et financièrement hors de portée de la plupart des agriculteurs pauvres. Par ailleurs, sa généralisation pourrait favoriser l'apparition d'une résistance aux insecticides.

✓ Lutte biologique

La lutte biologique, qui consiste à utiliser un organisme pour en tuer un autre, n'est pas adaptée à la réduction des populations de glossines car on ne connaît pas de prédateurs ou de parasites propres aux imagos ou aux pupes.

✓ Technique du lâcher d'insectes stériles

La technique des insectes stériles (SIT = *Sterile Insect Technique*) peut être à la rigueur considérée comme une méthode biologique de lutte contre la mouche tsé-tsé. Il s'agit là d'une méthode de lutte très spécifique qui consiste à lâcher des mâles stérilisés par irradiation gamma au milieu d'une population de glossines sauvages. Les femelles qui sont inséminées par ces mâles stériles n'auront aucune descendance viable, ce qui conduira au déclin de la population sauvage. La méthode repose sur le fait que seul le premier accouplement est fécond. La libération continue de mâles stériles en quantités (environ 10 mâles pour 1 femelle) et au cours du temps de l'espèce cible réduit sa capacité reproductrice et donc la population reproductrice. Cette technique, contrairement aux insecticides, a l'avantage de toucher uniquement l'espèce de glossine ciblée, sans aucune autre modification sur le reste de la faune et sur l'environnement. En plus, contrairement aux pièges qui sont immobiles, les glossines stériles

sont capables de se disperser, à la recherche de femelles sauvages. Cependant les mâles libérés doivent dépasser les mâles sauvages pour que la population ciblée s'effondre. Par ailleurs, il faut commencer par réduire la population de glossines de plus de 95 % par d'autres méthodes, comme les pièges, les écrans, les appâts vivants ou des pulvérisations d'insecticides avant de lâcher les mâles stérilisés. La technique fonctionne mieux lorsque la population d'une région est isolée sinon elle sera rapidement ré-envahie. Cette technique a été utilisée avec succès pour éradiquer *Glossina austeni* dans l'île d'Unguja au Zanzibar (Vreysen *et al.*, 2000 ; Hendrichs *et al.*, 2005) après réduction initiale de la population par la pose d'écrans adhésifs et imprégnation du bétail avec des insecticides (Vreysen, 1996). Toutefois, la production des insectes stériles et la logistique des lâchers sont complexes, la technique est coûteuse et sa mise en œuvre difficile. En outre, il est douteux qu'elle soit réalisable dans les zones infestées par de multiples espèces de glossines.

✓ Apport du système d'information géographique

Des outils modernes de gestion de l'information spatiale, en particulier les systèmes d'information géographique (SIG), permettent de nouvelles explorations pour comprendre l'épidémiologie - très souvent complexe - des maladies. Les SIG sont des outils puissants, souvent utilisés uniquement dans un but cartographique. La simple projection géographique des informations géoréférencées en provenance du terrain est certes déjà très riche pour visualiser des tendances et comprendre des relations, mais les SIG offrent également d'importantes potentialités pour confronter plusieurs informations de natures et origines différentes, tester des hypothèses et des corrélations, ou encore modéliser les fonctionnements dans un but prévisionnel (De la Rocque *et al.*, 2001). En effet, ce système facilite l'intégration, l'analyse, et la restitution de différentes variables sous forme de cartographies, classant les régions étudiées en différents niveaux de risques dans la transmission des maladies. Le SIG a déjà apporté une assistance significative dans de nombreuses études épidémiologiques des maladies à transmission vectorielle, notamment dans la lutte contre la bilharziose (Krou & Kouame, 2008), le paludisme (Machault *et al.*, 2009), et la trypanosomiase (Lucas *et al.*, 2001 ; Rutto & Karuga, 2009). C'est un bon outil d'aide à la décision pour la surveillance et la lutte, en ce sens qu'il facilite la localisation des zones les plus à risque dans la transmission du parasite permettant ici de sélectionner les régions dangereuses où s'effectueront prioritairement la lutte anti-vectorielle.

✓ Nouvelles avancées au niveau moléculaire

Des recherches récentes sur l'interaction vecteur-parasite au niveau moléculaire montrent un potentiel pour le développement de nouvelles stratégies de contrôle des interactions visant à rendre les glossines inaptes à transmettre le trypanosome. L'une de ces approches, la transgénése, consisterait à bloquer la capacité vectorielle de la mouche tsé-tsé en synthétisant des molécules inhibitrices des trypanosomes par des bactéries. La génomique des bactéries symbiontes des tsé-tsé est intéressante car la longévité et la reproduction de ces mouches est fortement compromise en l'absence de leur flore intestinale (Geiger *et al.*, 2013 ; Tsagmo Ngouné *et al.*, 2019). Il a été montré que *Sodalis glossinidius* et *Wigglesworthia glossinidia* pouvaient modifier la compétence vectorielle de leur hôte et que *Wolbachia*, pouvait entraîner la stérilité des accouplements. Des glossines réfractaires para-transgéniques de ce genre pourraient être lâchées au milieu de populations naturelles pour qu'elles se substituent à leurs homologues sensibles et réduisent ainsi la transmission de la maladie.

✓ Contribution de la génétique des populations

La compréhension de l'épidémiologie d'une maladie infectieuse ou parasitaire, l'évaluation des risques d'invasion ou d'épidémie, de même que l'effet d'une stratégie de lutte sur les populations cibles, ne peuvent se passer d'une connaissance minimale du fonctionnement des populations concernées. Dans le cas des maladies à transmission vectorielle, peu de travaux visant à connaître leur fonctionnement (structuration, échange de migrant...) ont été réalisés, ceci à cause des difficultés liées à leur petite taille pour la plupart, leurs densités plus ou moins faibles et surtout leur environnement, qui rendent impossibles des observations en conditions naturelles (McCoy, 2008). Les outils de la génétique des populations, notamment les marqueurs biochimiques et moléculaires offrent à cet égard un avantage que des méthodes basées sur l'observation ou la capture des organismes ne sauraient apporter. L'utilisation de matériel héréditaire (transmissible) ouvre l'accès à des événements rares, passés et éventuellement à venir, ce qui est par définition peu ou pas accessibles à l'observateur, même au cours de campagnes intensives d'observations de terrain (Prugnolle & De Meeûs, 2002 ; De Meeûs *et al.*, 2012). Les généticiens de la population vont encore plus loin en développant des modèles mathématiques abstraits de la dynamique des fréquences des gènes, en essayant d'extraire les conclusions de ces modèles sur les modèles probables de variation génétique dans les populations réelles et de tester les conclusions par rapport aux données empiriques (cas des études de structure génétique des populations). Une présentation plus large de la génétique des populations est détaillée dans les paragraphes suivants.

I-4. Généralités sur la génétique des populations

I-4-1. Quelques concepts clés

La génétique est une sous-discipline de la biologie (la science des êtres vivants). Elle se concentre sur l'étude des caractères héréditaires, en d'autres termes, des caractères transmis d'une génération à une autre grâce à la reproduction (De Meeûs, 2012). La génétique étudie ainsi les gènes, la façon dont ils s'expriment dans l'organisme, leur mode de transmission, etc.

Un gène est un segment d'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) qui gouverne la synthèse d'une séquence d'acides aminés. Il détermine la transmission des caractères héréditaires des êtres vivants et peut présenter plusieurs formes (états) appelées **allèles**.

Une population est un groupe d'individus appartenant à la même espèce, qui à un moment, ont vécu ou vivent sur un même territoire et qui sont interféconds.

Une sous-population est une subdivision de la population.

La génétique des populations est l'étude de la distribution des allèles dans les populations et leur évolution dans le temps et dans l'espace, sous l'effet des facteurs évolutifs.

I-4-2. Facteurs influençant la génétique des populations

Les facteurs qui peuvent entraîner un changement dans la composition génétique d'une population sont entre autres : la sélection naturelle, la mutation, la dérive génétique aléatoire, la migration, la recombinaison, la distance géographique entre les individus et le système de reproduction. Nous présenterons les plus importants :

I-4-2-1. La sélection naturelle

La sélection naturelle est le processus par lequel certains traits héréditaires qui rendent plus probables la survie et la reproduction avec succès d'un organisme deviennent plus fréquents dans une population au cours des générations successives.

I-4-2-2. Les mutations

Les mutations sont des changements dans la séquence d'ADN du génome d'une cellule qui peuvent être causées par des rayonnements, des virus, des transposons, des produits chimiques mutagènes ainsi que des erreurs qui se produisent pendant la méiose ou la réplication de l'ADN (Harry, 2001). Lorsque les changements se produisent naturellement sur l'ADN, les cellules utilisent des mécanismes pour corriger les mésappariements et les ruptures. Néanmoins, la réparation ne parvient parfois pas à ramener l'ADN à sa séquence originale. Ces erreurs créent de grands changements structurels dans la séquence d'ADN - duplication, inversion ou délétion

de régions entières, ou l'échange accidentel de parties entières entre différents chromosomes (translocation).

I-4-2-3. La dérive génétique

C'est une force évolutive qui traduit un échantillonnage aléatoire des allèles d'une population parentale qui seront représentés dans la descendance. Elle est directement liée à la taille finie des populations naturelles: plus les populations seront de taille restreinte, plus l'influence de la dérive génétique sera importante. Elle agit en faveur de l'augmentation de la différenciation entre populations.

I-4-2-4. Le flux de gènes

Le flux génétique est l'échange de gènes entre les populations qui sont habituellement de la même espèce (Harry, 2001). Le flux génique peut également être défini comme le transfert d'allèles d'une population à une autre. La migration peut être responsable d'un changement marqué dans les fréquences alléliques. L'immigration peut entraîner l'ajout de nouvelles variantes génétiques au pool génétique établi d'une espèce ou d'une population particulière. À l'inverse, l'émigration peut enlever le matériel génétique. Le flux génétique est entravé par les chaînes de montagnes, les océans et les déserts ou même les structures artificielles. Le flux génétique maintenu entre deux populations peut conduire à une combinaison des deux pools de gènes, ce qui réduit la divergence génétique entre les deux groupes. C'est pour cette raison que le flux génétique agit fortement contre la spécialisation.

I-4-3. Types de marqueurs utilisés en génétique des populations

Tous les organismes sont sujets à des mutations qui résultent d'opérations cellulaires normales ou d'interactions avec l'environnement, et conduisent à une variation génétique (polymorphisme). Conjointement à la sélection et à la dérive génétique, il existe une variation génétique au sein des individus, des espèces et des groupes taxonomiques. Pour que cette variation soit utile aux généticiens, elle doit être héréditaire et discernable, soit comme une variation phénotypique reconnaissable, soit comme une mutation génétique pouvant être distinguée par des techniques moléculaires.

Un marqueur génétique est simplement une portion de l'acide nucléique de l'organisme étudié, ou un sous-produit codé par cet acide nucléique (comme une protéine). L'ADN est la molécule porteuse de l'hérédité chez tous les êtres vivants. Il importe de toujours regarder ce qui se passe sur cette même portion d'ADN chez tous les individus analysés. Il est important

que cette portion d'ADN reste la même (même localisation dans le génome, à la même place sur le même chromosome) d'un individu à l'autre, d'où le terme locus.

Dans le cas particulier de la trypanosomiase, divers types d'études utilisant les marqueurs biochimiques et moléculaires ont été réalisés, tant sur le parasite que sur le vecteur. Sur le parasite, l'électrophorèse d'isoenzymes a notamment permis d'améliorer la classification des trypanosomes (Godfrey & Kilgour, 1976 ; Stevens *et al.*, 1992), les marqueurs minisatellites ont permis d'étudier leur structure génétique (MacLeod *et al.*, 2000), le RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) et les microsatellites ont contribué à l'étude des relations entre la diversité génotypique des trypanosomes et la diversité des formes cliniques de la maladie (Jamonneau *et al.*, 2002). Les marqueurs les plus couramment utilisés en génétique des populations de mouches tsé-tsé sont les allozymes, les microsatellites et les marqueurs d'ADN mitochondriaux.

I-4-3-1. Allozymes

Les allozymes sont des variantes alléliques de protéines produites par un locus de gène unique. Ils présentent un intérêt en tant que marqueurs parce que le polymorphisme existe et parce qu'ils représentent des produits protéiques de gènes. Les différences d'acides aminés dans les chaînes polypeptidiques des différentes formes alléliques d'une enzyme reflètent des changements dans la séquence d'ADN sous-jacente. Selon la nature des changements d'acides aminés, les produits protéiques résultants peuvent migrer à des vitesses différentes (en raison des différences de charge globale) lorsqu'ils sont passés à travers un gel d'amidon soumis à un champ électrique. Les différences de présence / absence et de fréquence relative des allèles sont utilisées pour quantifier la variation génétique et pour distinguer les unités génétiques au niveau des populations, des espèces et des désignations taxonomiques plus élevées. Les inconvénients associés aux allozymes comprennent les carences en hétérozygotes dues à des allèles nuls et la quantité et la qualité des échantillons de tissus requis. On note aussi comme inconvénient un faible niveau de polymorphisme : en effet, certains changements dans la séquence d'ADN ne modifient pas le polypeptide codé (substitutions silencieuses), et certains changements de polypeptide ne modifient pas la mobilité de la protéine dans un gel électrophorétique (substitutions synonymes) ce qui réduit le niveau de variation détectable.

I-4-3-2. Microsatellites

Cette technique a permis entre autre l'étude de la structure génétique des populations des glossines du groupe palpalis (Solano *et al.*, 1997 ; Luna *et al.*, 2001 ; Mélachio *et al.*, 2011)

et du groupe morsitans (Baker & Krafur, 2001 ; Ouma *et al.*, 2007). Les microsatellites sont constitués de copies multiples de répétitions de séquences simples disposées en tandem (SSR) dont la taille varie de 1 à 6 paires de bases (par exemple ACA ou GATA) (Tautz, 1989). Ils ont tendance à être uniformément répartis dans le génome sur tous les chromosomes et toutes les régions du chromosome. La plupart des loci microsatellites sont relativement petits, allant de 2 à 4 nucléotides répétés en tandem. La taille relativement petite des loci microsatellites est importante pour le génotypage facilité par la PCR. Le polymorphisme microsatellite est basé sur des différences de taille dues au nombre variable d'unités répétées contenues par des allèles à un locus donné. La force des marqueurs microsatellites est leur abondance, leur distribution génomique, la petite taille du locus et le polymorphisme élevé. Cependant, l'utilisation de marqueurs microsatellites implique une grande quantité d'investissement initial et d'effort. Chaque locus microsatellite doit être identifié et sa région flanquante séquencée pour la conception des amorces PCR. Pour le développement des marqueurs les plus efficaces, des banques d'ADN génomique enrichies en microsatellites sont fabriquées (Ostrander *et al.*, 1992; Kijas *et al.*, 1994). L'inconvénient de cette technique est principalement la présence d'allèles nuls qui sous-estimeront le taux d'hétérozygotes. En outre, plusieurs loci doivent être analysés afin d'avoir une bonne couverture du génome du microorganisme.

I-4-3-3. Marqueurs d'ADN mitochondriaux

Développés par Simon et collaborateurs en 1994 sur la drosophile, ces marqueurs jouent un rôle primordial dans l'étude génétique de la mouche tsé-tsé ainsi que dans la lutte contre la THA et la TAA. Une grande variabilité a été observée dans les loci mitochondriaux chez les glossines du groupe morsitans (Krafur & Wohlford, 1999 ; Wohlford *et al.*, 1999 ; Krafur *et al.*, 2000 ; Krafur *et al.*, 2001). On a trouvé moins de variations dans les populations de *G. palpalis gambiensis* (Marquez *et al.*, 2004). Si l'ADN est le support physique de l'information génétique et constitue le génome, il convient de rappeler que plusieurs génomes sont distingués au sein des cellules, car stockés dans des compartiments cellulaires différents : le génome nucléaire stocké dans le noyau et le génome mitochondrial stocké dans les mitochondries (figure 11). Chez les insectes, chaque molécule circulaire double brin d'ADN mitochondrial (ADNmt) se compose d'environ 16 000 paires de bases. Les deux brins d'ADNmt sont différenciés par leurs teneurs en nucléotides avec le brin riche en guanine appelé brin lourd et le brin riche en cytosine appelé brin léger. Le brin lourd code pour 28 gènes et le brin léger code pour 9 gènes pour un total de 37 gènes. Des 37 gènes, 13 sont pour l'ARN messager (ARNm), 22 sont pour l'ARN de transfert (ARNt) et deux (12S et 16S) sont pour les petites et

grandes sous-unités d'ARN ribosomique (ARNr), respectivement. L'ARNm code pour les protéines impliquées principalement dans le transport d'électrons et la phosphorylation oxydative des mitochondries telles que le cytochrome oxydase I, II et III.

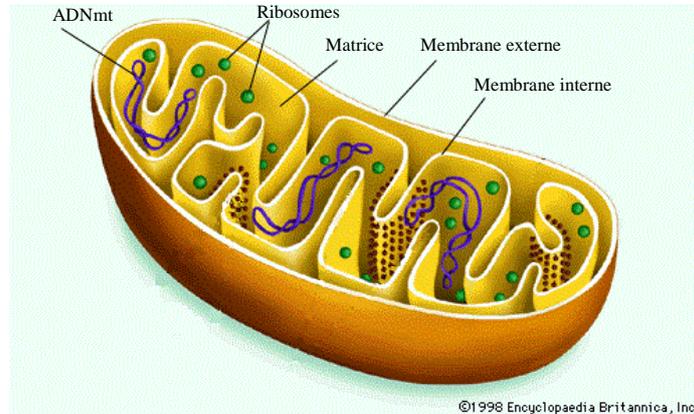


Figure 11 : Structure d'une mitochondrie

I-4-4. Importance de l'ADN mitochondrial en génétique des populations

Contrairement à l'ADN nucléaire, qui est hérité des deux parents et dans lequel les gènes sont réarrangés dans le processus de recombinaison, l'ADNmt est dit haploïde car hérité presque exclusivement maternellement, il n'y a donc habituellement aucun changement dans l'ADNmt du parent à la progéniture. La quasi-absence de recombinaison génétique dans l'ADN mitochondrial en fait une source d'information utile pour les scientifiques impliqués dans la génétique des populations surtout dans la biologie évolutive. En effet, l'analyse des divergences au sein de l'ADNmt peut être utilisée pour révéler les relations matrilineaires au sein des populations. Il peut être aussi utilisé pour tracer des événements historiques comme des goulots d'étranglement ou pour analyser des zones d'individus hybrides. L'ADNmt peut donc être très utile pour clarifier les relations phylogénétiques entre taxons étroitement liés (Moritz *et al.*, 1987) ; et même entre espèces difficilement distinguables sur le terrain (Phuc *et al.*, 2003 ; Saccaggi *et al.*, 2008). Il permet d'étudier le déplacement dans le temps et dans l'espace des espèces ou des populations (Hewitt, 2004). De plus, le nombre élevé de mitochondries par cellule (entre 100 et plusieurs milliers) et le nombre de copies d'ADNmt compris dans chaque mitochondrie (2 à 10) font que le génome mitochondrial est largement représenté dans une cellule et lui vaut un autre avantage en biologie moléculaire : celui d'être (en théorie) facilement amplifiable puisque bien représenté dans la cellule. Enfin, un aspect non négligeable est l'estimation de la structuration des populations. Les structures de population dérivées des données de l'ADNmt peuvent ne pas refléter celles du génome nucléaire en raison de la

transmission uniquement maternelle et donc, de l'absence d'hétérozygotie ; cependant des programmes mathématiques ont été mis sur pied pour contourner la difficulté (Excoffier *et al.*, 2005). Quoique son efficacité dans les études empiriques de génétiques des populations soit controversée (Gerber *et al.*, 2001 ; Bazin *et al.*, 2006 ; Teske *et al.*, 2018), les marqueurs mitochondriaux ont aidé à clarifier les relations systématiques entre les taxons de glossines et ont fourni des données importantes sur le flux génétique parmi les populations naturelles (Gooding & Krafsur, 2005). Krafsur (2002) a obtenu des résultats statistiquement plus proches entre les marqueurs microsatellites et mitochondriaux, qu'ils ne l'étaient des allozymes. L'analyse des marqueurs polymorphes permet d'étudier les différences génétiques entre les individus ou les populations ; il s'agit en fait des distances génétiques. Ces données sont visualisables sur un arbre phylogénétique. En effet, quand il existe plus d'un « allèle » pour un gène, on peut calculer les proportions respectives dans les populations et obtenir ainsi une représentation géographique des différentes variations génétiques. Si on étudie plusieurs gènes distincts, il est possible d'associer à un individu un ensemble de polymorphismes sur le même chromosome que l'on nomme «haplotype». Les haplotypes les plus proches («haplogroupes») seront regroupés afin d'identifier les haplotypes ancestraux, de préciser le degré de filiation entre les différentes populations et de dater les différentes branches de l'arbre phylogénétique, pour ainsi dater « la séparation » entre deux populations.

Voir l'encadré ci-dessous pour les définitions de certains termes.

Un locus est l'emplacement d'un gène sur un chromosome ou sur la chaîne nucléotidique d'un chromosome. Ce terme est aussi utilisé en génétique des populations pour désigner une séquence d'ADN codante ou non, soumise à une étude (De Meeûs, 2012).

Un échantillon est un groupe d'individus prélevés au hasard dans une population ou dans une sous-population.

Un génotype donne la composition allélique complète d'un individu à un locus donné.

Un haplotype est un génotype multi locus issu d'un seul chromosome.

Un haploïde caractérise un organisme ou une cellule avec un matériel génétique présent en un seul exemplaire.

La distance génétique entre taxons est une sorte de moyenne des différences observées entre les taxons comparés au niveau des allèles de tous les locus. Ainsi les taxons ayant les mêmes allèles à tous les locus étudiés mais montrant des différences de fréquences alléliques auront des distances génétiques non nulles. Les distances génétiques calculées sont comprises entre 0 (aucun allèle commun) et 1 (identité totale).

CHAPITRE II :
CADRE GEOGRAPHIQUE,
MATERIEL
ET METHODES

II-1. Cadre géographique

II-1-1. Raison du choix des localités

Notre étude a été réalisée dans sept foyers de la THA, dont quatre (Bipindi, Campo, Fontem et Bafia) au Cameroun, un (Malanga) en République Démocratique du Congo et deux (Azaguié et Nagadoua) en Côte d'Ivoire. Les sites d'échantillonnage du Cameroun sont à environ 1500 km de ceux de la Côte d'Ivoire et à environ 1000 km de celui de la RDC. Ces sites sont indiqués à la figure 12.

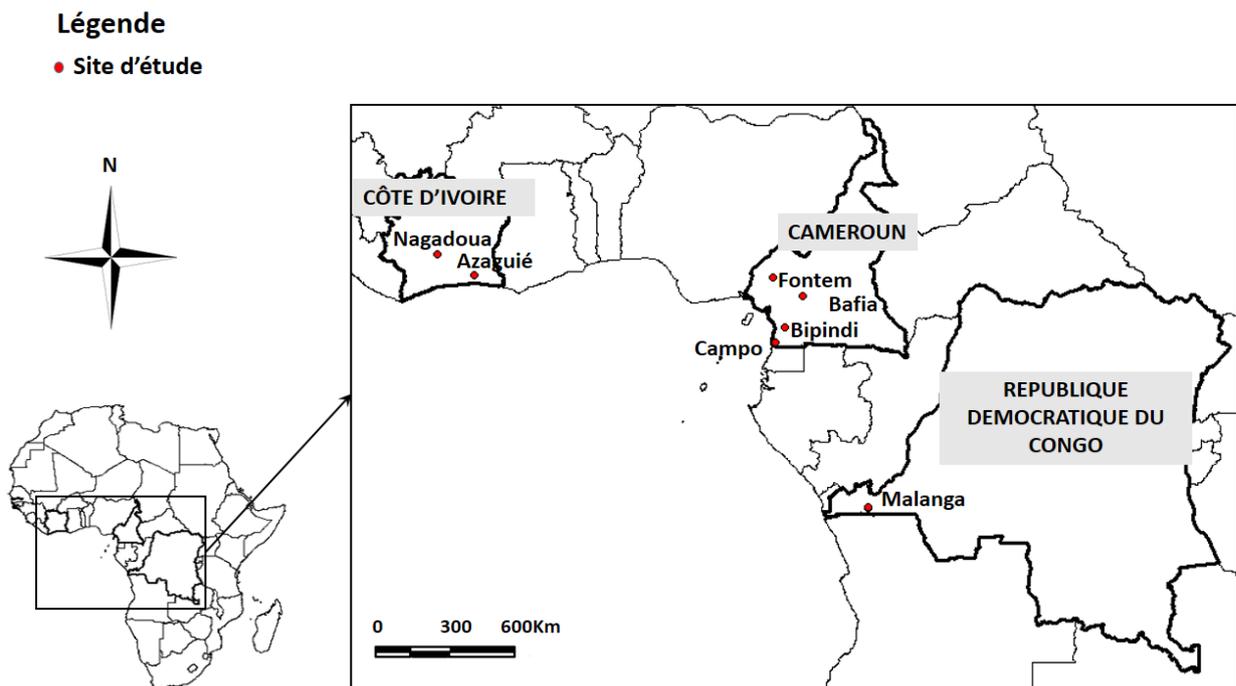


Figure 12 : Carte montrant la localisation géographique des sites d'études

Au Cameroun, cinq localités Bipindi, Campo, Fontem, Manfé et Doumé sont des foyers de THA suspectés d'être encore actifs. Cependant depuis 2000, des malades ont été détectés uniquement à Bipindi, Campo et Fontem (Programme National de Lutte contre la THA au Cameroun -PNLTHA-, données non publiées). Dans ces foyers, le vecteur principal des trypanosomes est *Glossina palpalis palpalis*, d'où le choix de cette espèce pour notre étude. Quant au foyer de Bafia choisi pour notre étude, il s'agit d'un ancien foyer de THA, qui actuellement est considéré comme « éteint » du fait de l'absence de malades depuis plus de 25 ans, malgré la présence du vecteur *G. palpalis palpalis*, et des autres facteurs épidémiologiques pouvant contribuer à la transmission des trypanosomes (Simo *et al.*, 2015). Nous avons pensé

qu'il pouvait être intéressant de comparer les caractéristiques génétiques des glossines de ce foyer à celles des foyers encore actifs du Cameroun.

Les foyers de la Côte d'Ivoire et de la RDC ont été choisis du fait des grandes distances géographiques qui les sépare du Cameroun, de la présence de *G. palpalis palpalis* et de ce que ces foyers sont caractérisés par des profils épidémiologiques variés.

Nous avons choisi le foyer de Bipindi (Cameroun) pour y réaliser des analyses plus approfondies, notamment l'identification des trypanosomes chez les glossines, la détermination des hôtes nourriciers, l'évaluation du risque de transmission du parasite, l'analyse génétique au niveau intra-populationnelle. Ce travail pionnier et particulièrement important a été motivé par le désir d'évaluer une quelconque corrélation entre les géotypes de glossines et le niveau de risque de transmission du parasite ; c'est pourquoi il n'a été réalisé que dans ce seul foyer.

II-1-2. Foyer de Bipindi

Le foyer de THA de Bipindi (3°2' N, 10°22'E), est localisé dans le département de l'Océan, Région du Sud Cameroun, à 75 kilomètres environ de la Côte. Le climat est équatorial, avec une alternance de quatre saisons, dont deux saisons sèches et deux saisons des pluies. La température varie entre 22° C et 28° C avec une moyenne de 25° C (Suchel, 1988). La pluviométrie est de 2500 à 3000 mm d'eau par an. Le paysage est marqué par la prédominance de la forêt dense équatoriale qui, autour des habitations et là où l'action de l'homme est visible, se dégrade en forêt secondaire, où s'imbriquent des faciès tels que les bambous, les cultures vivrières, les plantations de cacaoyers et de caféiers. Le réseau hydrographique est dense avec de nombreux cours d'eau (Lokoundjé, Mougué, Mbikiliki, Shoungou, Tchangué) (Olivry, 1986). La population humaine a pour activité l'agriculture, la chasse, la pêche et la collecte des produits forestiers. Bipindi est un foyer historique connu depuis le début du XXème siècle sous le nom du « foyer de Lolodorf ». De 1998 et 1999, 43 personnes atteintes de la THA y ont été diagnostiquées dans 02 villages (Lambi et à Bidjouka). Ce foyer était alors considéré comme étant le foyer de THA le plus actif du Cameroun (Grébaut *et al.*, 2001). Entre 1998 et 2011, 83 cas cumulés de la maladie du sommeil y ont été reportés (Ebo'o Eyenga, données non publiées). Notre étude a été réalisée dans trois villages (Lambi, Memel et Ebiminbang) situés sur les trois principaux axes (figure 13).

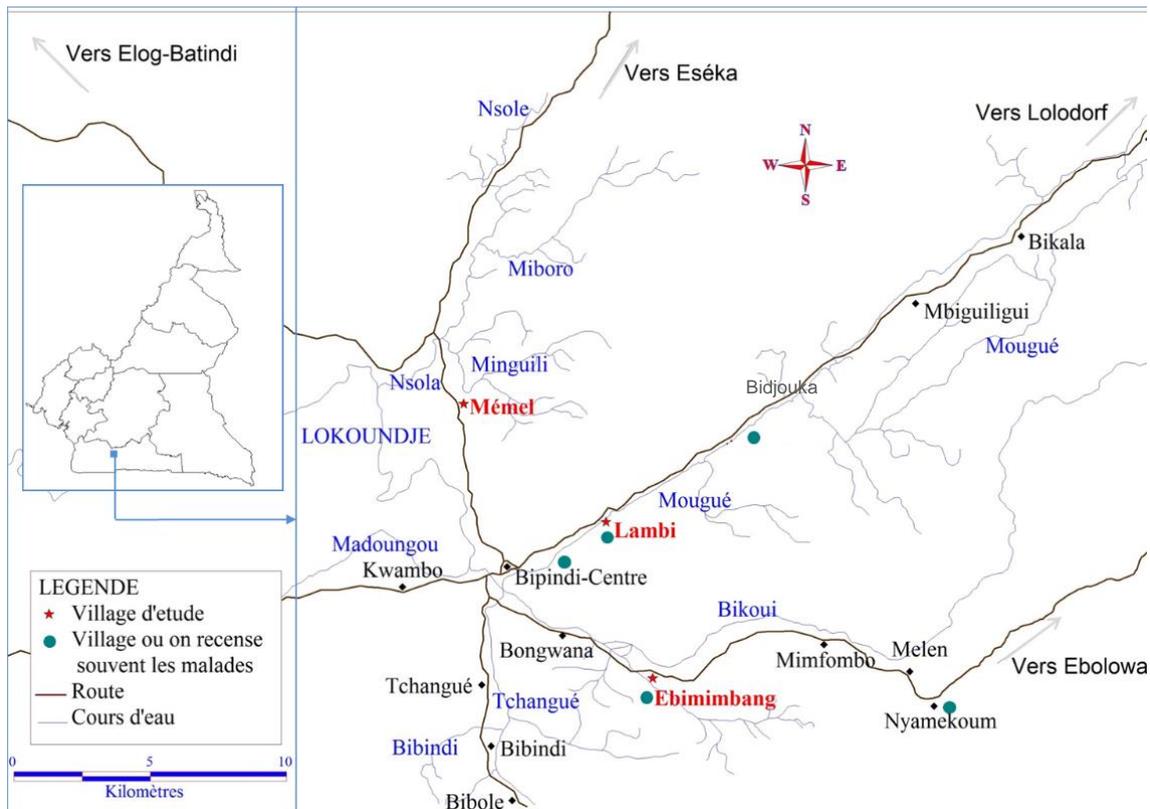


Figure 13 : Carte du foyer de trypanosomoses de Bipindi (Extrait de la carte topographique inc, 1976).

II-1-3. Foyer de Fontem

Le foyer de THA de Fontem (5°40'N, 9°55'E) est situé dans la Région du Sud-Ouest du Cameroun (figure 14). Il couvre le département du Lebialem et une partie des départements de la Manyu et du Koupé-Manengouba. Le climat qui y règne est de type tropical humide. Le relief est irrégulier avec de nombreuses collines et vallées. L'altitude moyenne est d'environ 230m dans le Nord, 750m dans le Centre et 980m dans le Sud. La région est parcourue par de nombreux cours d'eau à courants rapides. Les paysans pratiquent l'agriculture et l'élevage du petit bétail et de la volaille. Auparavant, le foyer de Fontem était parmi les foyers les plus actifs du Cameroun (Asonganyi & Ade, 1992 ; Morlais *et al.*, 1998). De 1998 à 2006, seuls 8 patients ont été détectés parmi 16000 habitants examinés (OCEAC : Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale, données non publiées). Les travaux antérieurs effectués sur le réservoir porcin ont montré une importante circulation de *Trypanosoma brucei gambiense* chez les porcs dans les sous foyers du Nord et du Centre (Nkinin *et al.*, 2002 ; Simo *et al.*, 2006). Par contre, les travaux de prospection médicale menés par les équipes de l'OCEAC

et du Ministère de la santé publique du Cameroun ont permis de détecter durant au moins deux décennies, les malades uniquement dans le sous foyer du Centre.

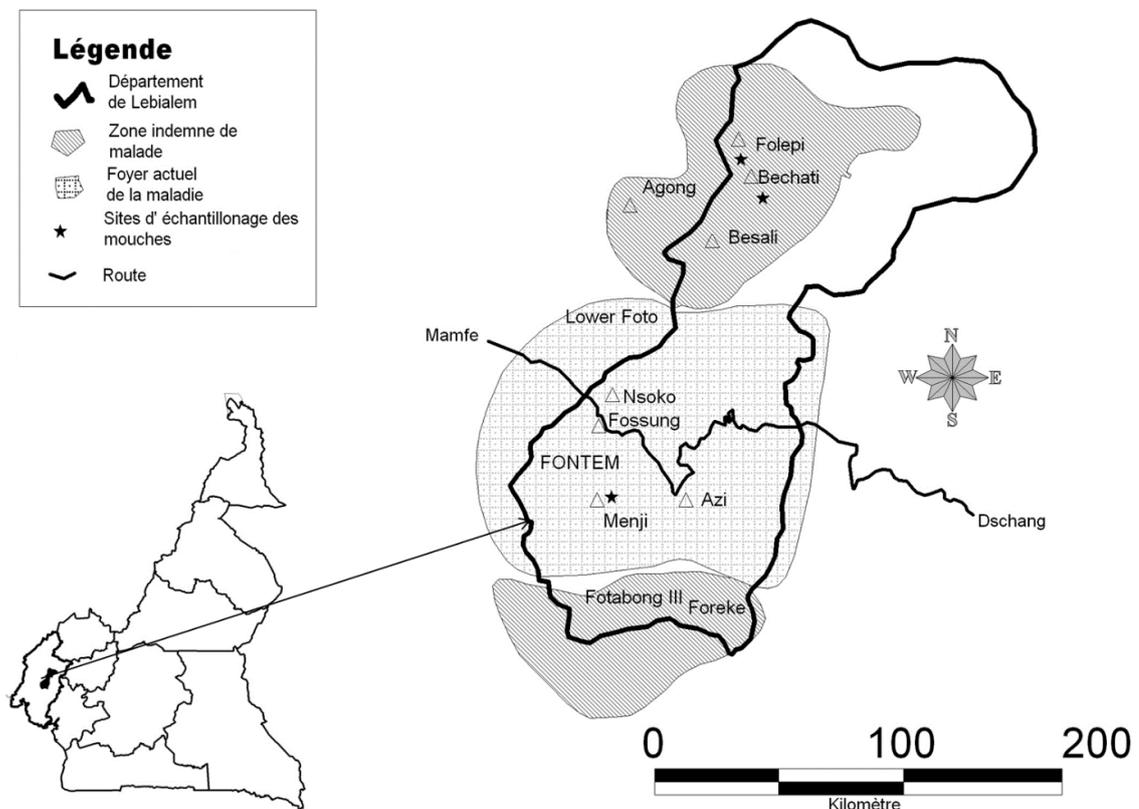


Figure 14 : Carte du foyer de trypanosomoses de Fontem (Extrait de la carte topographique INC, 1976).

II-1-4. Foyer de Campo

Le foyer de Campo (2°20'N, 9°52'E) est situé à la frontière Cameroun-Guinée Equatoriale au bord de l'Océan Atlantique et à l'embouchure du fleuve Ntem (figure 15). Campo constitue un bassin sédimentaire, avec un terrain accidenté, un sol ferrallitique jaune, hydromorphe et peu fertile. Il y règne un climat équatorial maritime à quatre saisons dont deux saisons sèches et deux saisons de pluie. Les saisons sèches comprennent une grande qui va de décembre à février et une petite de juillet à août, alors que les saisons de pluies vont de septembre à novembre pour la grande et de mars à juin pour la petite. La pluviométrie est importante et varie de 2500 à 2800 mm par an. La température et l'humidité relative varient très peu, les moyennes annuelles étant respectivement de 25° C et de 87%. La végétation est de type forestier littoral. Campo est couvert par une forêt ombrophile peu dégradée. Le réseau hydrographique y est dense avec des rivières, des mangroves et des zones marécageuses

(Olivry, 1986). La zone de Campo est riche en faune sauvage, si bien qu'elle a été érigée en réserve de faune depuis 1932. Les activités des populations de Campo sont centrées sur l'agriculture, la pêche, la cueillette et la chasse. Campo est un foyer hypo-endémique n'ayant jamais connu de flambée épidémique (Penchenier *et al.*, 1999) ; cependant, environ 70 cas de maladie ont été dépistés de 2002 à 2012. De nouveaux malades sont toujours dépistés lors des enquêtes du PNLTHA au Cameroun (données non publiées).

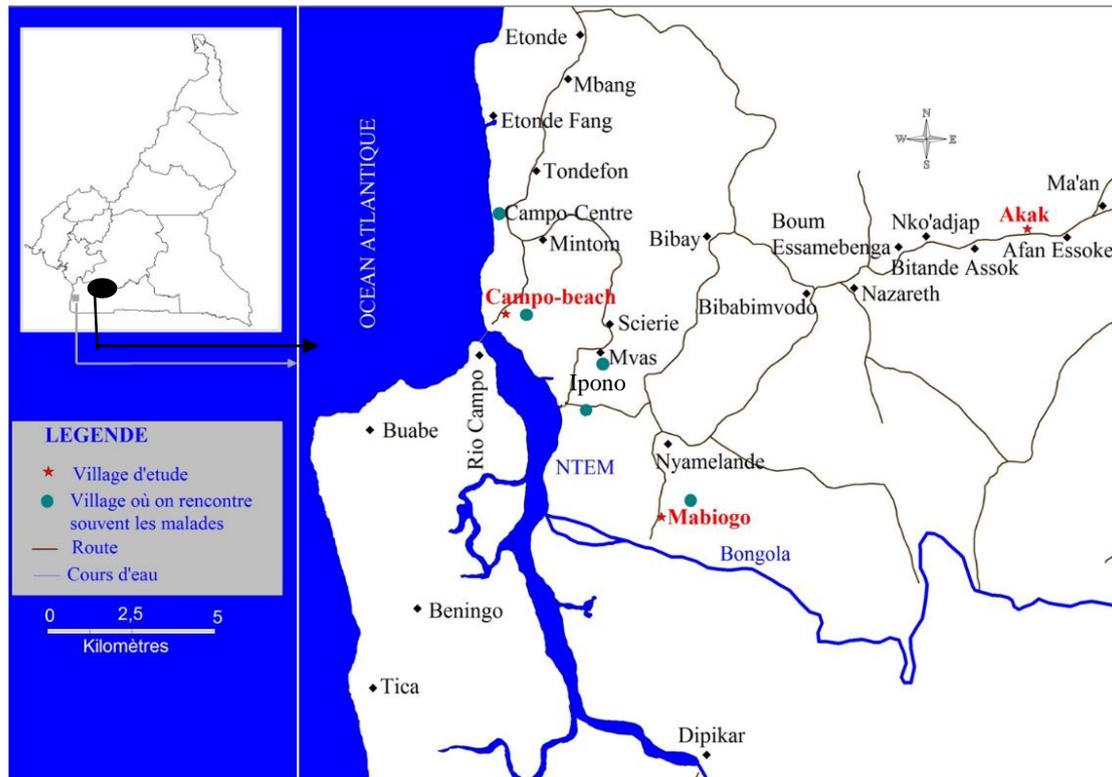


Figure 15 : Carte du foyer de trypanosomoses de Campo (Extrait de la carte topographique INC, 1976).

II-1-5. Foyer de Bafia

Ce foyer (4,75°N et 11,23°E) est localisé dans la Région du Centre Cameroun, dans le département du Mbam et Inoubou (figure 16). L'aspect général de la région est celui d'une vaste plaine de savane parsemée d'importants îlots forestiers reliés entre eux par des galeries forestières. Le foyer est situé à la limite de la forêt semi-décidue, entre le bloc forestier du Sud-Cameroun et la zone de savane du Centre. Cette région vallonnée, d'altitude moyenne de 400 mètres est parcourue par un réseau hydrographique dense dépendant des fleuves Mbam et Sanaga. Elle est une mosaïque typique forêt-savane. Le climat est de type équatorial à deux saisons des pluies et deux saisons sèches, avec une moyenne annuelle de précipitations entre

les 1500 et 1700mm d'eau par an. La température moyenne annuelle est de 25,1°. Dans ce foyer, l'habitat est de type très dispersé, avec des groupes de maisons dispersés le long des routes ou sentiers traversant les cacaoyères. Cet ancien foyer de THA, autrefois très actif (Mondet & Mbakop, 1986), est considéré aujourd'hui comme éteint, puisqu'aucun malade n'a été dépisté depuis une vingtaine d'années, malgré la présence des glossines vectrices. Les trypanosomes animaux y sont néanmoins détectés chez les glossines à ce jour (Simo *et al.*, 2015).

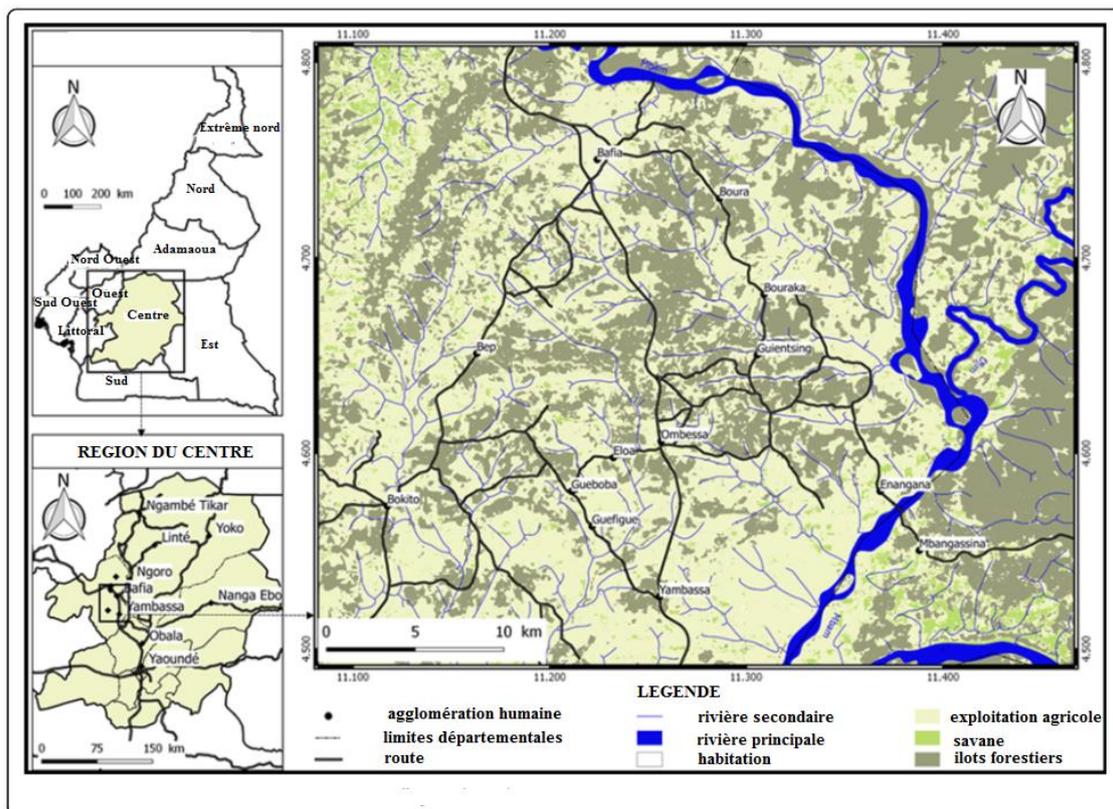


Figure 16 : Carte du foyer de trypanosomoses de Bafia (Extrait de l'article Simo *et al.*, 2015).

II-1-6. Foyer de Malanga

Ce foyer est situé dans le département de Kimpese de la province du Bas Congo (4°34'S, 14°21'E) en République Démocratique du Congo (figure 17). Malanga est à 340 mètres d'altitude. C'est un village situé à 232 km de Kinshasa. Ce foyer se trouve le long de la rivière Kisantu et présente une végétation caractérisée par la présence d'une savane herbacée et d'une relique forestière. Les activités des populations de Malanga sont centrées sur l'agriculture et l'élevage de quelques animaux domestiques. Parmi ces derniers, on peut citer les porcs, les chèvres et les moutons qui sont pour la plupart en divagation totale dans les villages. Comme la

plupart des foyers de la maladie du sommeil en République Démocratique du Congo, Malanga aurait connu une évolution épidémique de la THA. La situation épidémiologique actuelle de la maladie reste peu connue (Simo *et al.*, 2012).

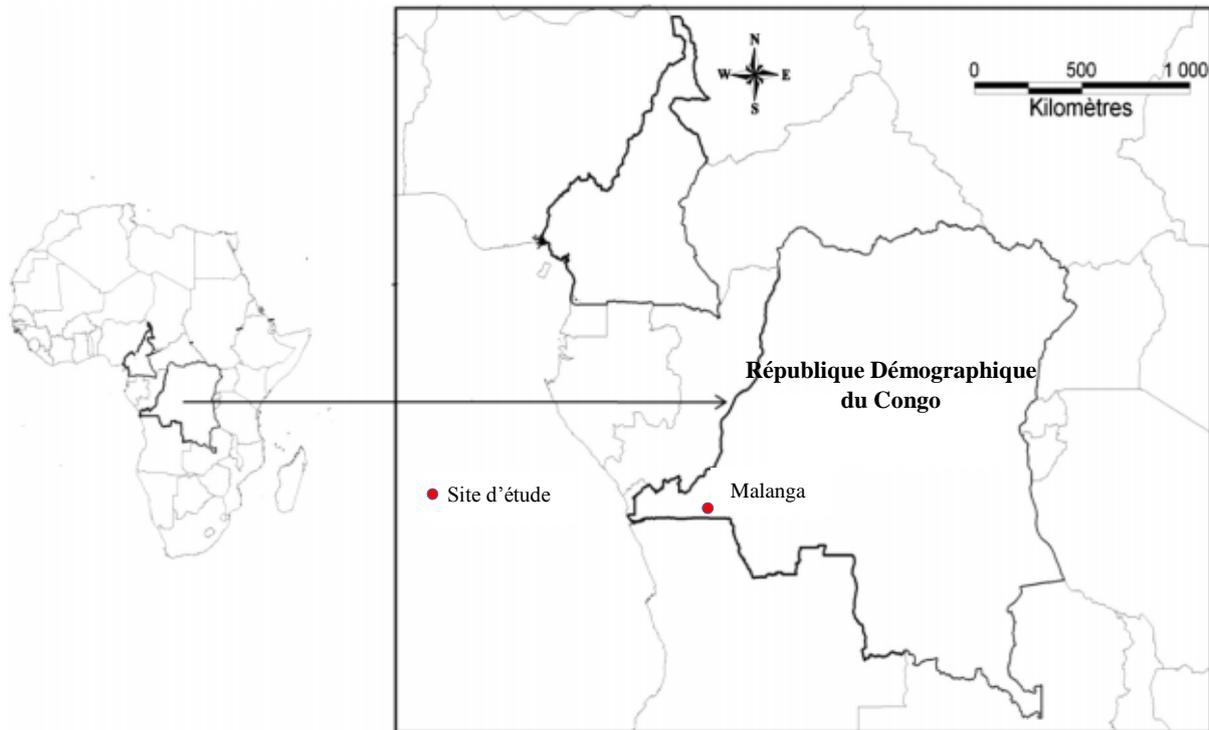


Figure 17 : Carte montrant la localisation géographique du foyer de Malanga (Extrait de Simo *et al.*, 2012).

II-1-7. Foyer d'Azaguié

Azaguié ($4^{\circ}04'O$ et $5^{\circ}37'N$) est une ville située à environ 45 km d'Abidjan (figure 18), capitale économique de la Côte d'Ivoire. C'est une ville essentiellement agricole avec une végétation faite de forêt dense en partie dégradée, un relief très accidenté (Vennetier *et al.*, 1978) et de nombreux bas-fonds humides, intensément exploités, à la périphérie de la ville. Le climat est de type équatorial avec une pluviométrie bimodale caractérisée par quatre saisons bien marquées : deux saisons de pluies intercalées par deux saisons sèches. La pluviométrie moyenne annuelle est de 1463 mm, pour un déficit hydrique annuel moyen de 341 mm. Généralement, il y a une courte saison sèche en août et une longue saison sèche de décembre à mars. Les températures mensuelles moyennes vont de $27^{\circ}C$ à $29^{\circ}C$. Les mois de février, mars et avril sont généralement les plus chauds.

II-1-8. Foyer de Nagadoua

Nagadoua ($5^{\circ}52'O$ et $6^{\circ}35'N$) est un petit village à 5km du foyer de THA de Sinfra (figure 18), situé au centre-ouest de la Côte d'Ivoire. La végétation est de type forêt mésophile dégradée, caractérisée par une très forte déforestation due en partie à l'exploitation du bois, mais surtout à la mise en valeur des terres par les cultures de rente, notamment du cacao et du café. Le climat est de type équatorial avec une pluviométrie caractérisée par deux saisons de pluies intercalées par deux saisons sèches. L'habitat est typique de la zone de forêt, avec des villages implantés le long des principaux axes routiers, et de nombreux campements de culture disséminés au cœur des plantations ou des champs. Le foyer de Sinfra, depuis les années 90, s'est signalé comme un micro-foyer actif de T.H.A. (Dje *et al.*, 2002), avec les plus fortes prévalences à Nagadoua (Laveissière *et al.*, 2003).



Figure 18 : Carte présentant la localisation géographique de Nagadoua et d'Azaguié (Côte d'Ivoire)

II-2. Matériel et méthodes

II-2-1. Capture des glossines, dissection et observation microscopique

La capture des glossines a été faite par piégeage. Celui-ci a consisté en la pose de pièges pyramidaux (Gouteux & Lancien, 1986) (figure 19) dans des biotopes favorables à la fois à l'installation des populations de glossines et aux contacts hommes-glossines tels que : les lisières habitation-brousse, les bords de routes ou sentiers, les points d'eau, les champs vivriers... Les coordonnées géographiques de chaque site de piégeage ont été relevées à l'aide d'un Système de Positionnement par Satellite (GPS) et enregistrées, ainsi que les caractéristiques de chacun de ces sites. Tous les insectes piégés dans les manchons ont été triés ; les glossines ont été identifiées puis disséquées.



Figure 19 : Photo d'un piège pyramidal

L'échantillonnage a concerné trois villages dans chacun des quatre foyers du Cameroun à savoir Campo-Beach, Mabiogo et Akak à Campo (novembre 2009), Menji, Bechati et Folepi à Fontem (avril 2009), Eloa, Bouraka et Guéfigué à Bafia (en juin 2010), Lambi, Memel et Ebimimbang à Bipindi (en juillet 2009). En RDC l'échantillon a été récolté à Malanga (août 2009), en Côte d'Ivoire, la capture a été faite dans deux villages Nagadoua et Azaguié en septembre 2013.

Un second échantillonnage a été mené à Bipindi en mars 2010, il a été réalisé exactement dans les mêmes sites que les précédents. En effet, nous avons exceptionnellement mené dans ce foyer, des études comparatives (entomologiques et parasitologiques) entre deux périodes correspondant respectivement au début de la petite saison sèche (juillet 2009) et au début de la

petite saison des pluies (mars 2010), notre but étant d'évaluer l'influence des paramètres spatio-temporels sur la transmission de la maladie.

Avant la dissection, l'espèce et le sexe des glossines ont été déterminés suivant les paramètres décrits par Laveissière *et al.* (2000). La détermination de l'espèce se base sur les critères morphologiques et la couleur. La détermination du sexe se fait par l'observation des *genitalia*. La dissection a consisté en la coupure de pattes (pour les études génétiques) et la dilacération de l'abdomen de l'insecte afin d'en extraire l'intestin moyen (IM) et ce uniquement chez les glossines de Bipindi. L'observation microscopique de ces intestins moyens des glossines de Bipindi visait à mettre en évidence la présence éventuelle des trypanosomes et des repas de sang (RS). Ces isolats ont été placés dans une goutte d'eau physiologique entre lames et lamelles puis observés au microscope optique à l'objectif 10X. Toutes les glossines de ce foyer ont été disséquées et observées, à l'exception des glossines ténérales, c'est-à-dire celles qui n'ont jamais pris de repas de sang et par conséquent qui n'ont jamais été exposées à une quelconque infestation ; elles ont cependant été comptées pour la détermination de la densité apparente par piège (DAP).

Les intestins et les pattes ont été conservés séparément dans des microtubes contenant 200µL d'éthanol à 95° et ramenés au laboratoire, respectivement pour l'identification moléculaire des espèces de trypanosomes et l'origine des repas de sang d'une part et pour le génotypage des glossines d'autre part. Une fois au laboratoire, les différents échantillons ont été conservés à -20° en attente d'analyses ultérieures.

II-2-2. Identification moléculaire de quelques espèces de trypanosomes

II-2-2-1. Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait des intestins de glossines par la méthode de CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) (Maniatis *et al.*, 1982). C'est une méthode de purification de l'ADN. Après avoir fait évaporer l'alcool (en laissant les tubes ouverts dans une étuve à 80°C), 600µL de tampon CTAB ont été ajoutés à chaque tube contenant l'intestin d'une glossine (ce tampon est préparé en mélangeant 10ml de CTAB 5% ; 2,5ml de TRIS® 1M, pH=8 ; 1ml d'EDTA® 0,5M, pH=8 ; 7ml de NaCl 5M ; 4,5ml d'eau distillée et 100µl de Béta-mercaptoéthanol). Les tissus ont par la suite été dilacérés à l'aide d'un piston et les échantillons ont été incubés au bain-marie, à 60°C pendant 30 minutes. Ensuite, 600µl d'une solution contenant un mélange dans les proportions 24 :1 respectives de chloroforme et d'alcool isoamylique ont été ajoutés à chaque tube. Les tubes ont été délicatement homogénéisés pendant 10 minutes et ont ensuite

été centrifugés à 8000 tours par minute pendant 15 minutes. La phase aqueuse qui est la phase supérieure a été prélevée et transvasée dans un nouveau microtube de 1,5µl étiqueté. Un égal volume d'isopropanol y a été ajouté. Les tubes ont été une fois de plus homogénéisés (quelques secondes cette fois) et incubés à -20°C pendant 30 minutes, pour la précipitation des acides nucléiques. Après cette incubation, les tubes ont été centrifugés à 13000 tours par minute pendant 20 minutes, ce qui a permis à l'ADN de se tasser en un culot au fond du tube. Après évacuation du liquide surnageant, le culot a été lavé avec 1ml d'éthanol à 70° et les tubes ont une fois de plus été centrifugés à 13000 tours par minute pendant 15 minutes. Après évacuation de l'alcool et séchage du culot d'ADN, ce dernier a été suspendu dans 20µl d'eau stérile et conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

II-2-2-2. Amplification spécifique des gènes de quelques espèces de trypanosomes

Des séquences d'ADN spécifiques de quelques espèces de trypanosomes ont été amplifiées par PCR pour détecter chez les glossines échantillonnées : *Trypanosoma brucei*, *T. congolense* type «forêt», *T. congolense* type «savane», *T. vivax*. Ce sont des espèces de parasites qui sont couramment impliquées dans la THA et la TAA dans cette localité. La composition des tubes réactionnels est consignée dans le tableau I.

Tableau I : Composition d'un tube contenant l'ADN à amplifier par la PCR

Réactifs	Volume
Tampon TBE 10X	1,5µl
TBE (TRIS-Borate-EDTA) (de concentration 10X)	
dNTPs (concentrés à 10mM)	0,3µl
Taq (<i>Thermus aquaticus</i>) ADN polymérase (concentrée à 5U/µl)	0,06µl
Amorce 1 (<i>foward</i>) (concentrée à 10µM)	0,6µl
Amorce 2 (<i>reverse</i>) (concentrée à 10µM)	0,6µl
MgCl ₂ (concentré à 25 mM)	0,6µl
Eau stérile	8,34µl
Extrait d'ADN	3µl
Volume final	15µl

L'amplification de ces séquences d'ADN a été faite à l'aide d'un thermocycleur programmable de marque TC-412 TECHNE et le programme d'amplification contenait les étapes suivantes :

- ✓ une étape de dénaturation initiale du double brin d'ADN à 94°C pendant 3 minutes et 30 secondes ;
- ✓ 40 cycles comprenant chacun une étape de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation des amorces à 58°C (pour les amorces de *Trypanosoma brucei*) ou à 60° (pour les amorces de *Trypanosoma vivax* et *Trypanosoma congolense*) pendant 30 secondes et une étape d'élongation à 72°C pendant 1 minute ;
- ✓ une étape d'extension finale à 72°C pendant 5 minutes.

II-2-2-3. Résolution des produits d'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose

Après la PCR, les produits d'amplification ont été séparés par migration sur un gel d'agarose à 2% obtenu en chauffant deux grammes d'agarose dans 100ml de tampon TBE 0,5X. Le TBE 0,5X est obtenu en diluant 20 fois avec de l'eau distillée le TBE 10X qui est lui-même obtenu en mélangeant 108g de TRIS[®], 55g d'acide borique et 7,44g d'EDTA[®], dans un volume final de 1 litre d'eau distillée. Le gel d'agarose 2% ainsi préparé a été coulé dans un moule contenant un peigne qui façonne des puits, dans lesquels seront déposés les produits d'amplification à migrer. Juste avant de couler le gel, 6µl de bromure d'éthidium y ont été ajoutés ; ce réactif joue le rôle de révélateur en rendant fluorescentes les bandes d'ADN sous lumière ultraviolette. Avant le dépôt des échantillons dans le gel, ces derniers ont été mélangés à un tampon de dépôt qui avait pour rôle d'entraîner l'ADN au fond des puits du gel et servait aussi de front de migration. La migration a été faite sous l'effet d'un champ électrique créée par un générateur d'électrophorèse, à 100 volts pendant 30 minutes et la révélation sous une lampe à ultraviolets.

Pour l'interprétation des résultats, les PCR réalisées pour détecter les différentes espèces de trypanosomes recherchées ont été faites en présence d'un témoin positif pour chaque espèce, témoin qui correspondait à l'ADN extrait de la souche de trypanosome correspondante. Ces ADN témoins étaient déjà disponibles au laboratoire. Lors de la révélation des bandes, étaient considérés positifs les échantillons qui présentaient une bande (d'ADN amplifié) de même poids moléculaire que celle du témoin positif. L'utilisation d'un marqueur de poids moléculaire pendant la migration des produits d'amplification a permis de déterminer la taille (en paires de bases ou pb) de ces produits.

II-2-2-4. Identification de *Trypanosoma brucei gambiense*

Le parasite *T. b. gambiense* est responsable de la trypanosomiase chez l'homme. Les échantillons positifs à *Trypanosoma brucei* s.l précédemment amplifiés et révélés ont été ré-amplifiés avec une séquence d'amorce spécifique de la sous-espèce *Trypanosoma brucei gambiense* groupe 1 (Herder *et al.*, 2002).

Les séquences des couples d'amorces spécifiques utilisées pour l'amplification des séquences d'ADN des différentes espèces de trypanosomes recherchées sont consignées dans le tableau II.

Tableau II : Séquences des amorces des espèces et sous-espèces de trypanosomes

Spécificité	Séquences des couples d'amorces	Taille du produit	Références
<i>T. brucei</i> s.l.	5'- GAATATTAACAATGCGCAG-3' 5'- CCATTTATTAGCTTTGTTGC-3'	164 pb	Masiga <i>et al.</i> , 1992
<i>TCF</i>	5'-GGACACGCCAGAAGGTACTT-3' 5'-GTTCTCGCACCAAATCCAAC-3'	350 pb	Masiga <i>et al.</i> , 1992
<i>TCS</i>	5'-CGAGCGAGAACGGGCAC-3' 5'- GGGACAAACAAATCCCGC-3'	341 pb	Moser <i>et al.</i> , 1989
<i>T. vivax</i>	5'-CTGAGTGCTCCATGTCCCAC-3' 5'-CCACCAGAACACCAACCTGA-3'	150 pb	Masiga <i>et al.</i> , 1992
<i>TBGg1</i>	5'-GCGCCGACGATACCAATGC-3' 5'-AACGGATTTTCAGCGTTGCAG-3'	154 pb	Herder <i>et al.</i> , 2002

pb : paires de bases ; *TCF* : *Trypanosoma congolense* type forêt ; *TCS* : *Trypanosoma congolense* type savane. *TBGg1* : *Trypanosoma brucei gambiense* groupe 1

II-2-3. Identification de l'origine des repas de sang

L'ADN a été extrait du sang retrouvé dans l'intestin des glossines tel que décrit par Simo *et al.* (2006) et l'origine de ce reliquat de sang a été déterminée par la technique des hétéroduplexes telle que décrite par Boakye *et al.* (1999) et modifiée par (Njiokou *et al.*, 2004). Cette méthode consiste à amplifier le gène du cytochrome b oxydase présent dans le matériel génétique des vertébrés, ceux-ci étant les hôtes sur lesquels se nourrissent habituellement les glossines. Ainsi, les gènes du cytochrome b présent dans l'ADN issus des repas de sang sont amplifiés ainsi que le gène du cytochrome b du rat de Gambie choisi comme « driver ». Des vertébrés connus sont également amplifiés, ils sont utilisés comme références. Pour l'hybridation des ADN issus des produits d'amplification du « driver » avec ceux des animaux

de références d'une part et ceux des échantillons des repas de sang d'autre part, une dénaturation est réalisée suivie d'un refroidissement lent à la température ambiante. A la suite de ce refroidissement, il se forme des homoduplexes et des hétéroduplexes qui sont par la suite séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. L'origine des repas de sang des échantillons est identifiée par comparaison de leur profil électrophorétique avec celui de chaque animal de référence.

II-2-3-1. Amplification du gène du cytochrome b oxydase des vertébrés

L'amplification du gène du cytochrome b a été faite en utilisant les amorces Cyt B1 (5'-CCTCAGAATGATATTTGTCCTCA-3') et Cyt B2 (5'ATCCAACATCTCAGCATGATGAAA-3') (Boakye *et al.*, 1999). La composition des tubes réactionnels est consignée dans le tableau III.

Tableau III : Composition d'un tube contenant l'ADN à amplifier par la PCR-Cyt B

Réactifs	Volume
Tampon TBE 10X	2,5µl
TBE (TRIS-Borate-EDTA) (de concentration 10X)	
dNTPs (concentrés à 10mM)	0,5µl
Taq (<i>Thermus aquaticus</i>) ADN polymérase (concentrée à 5U/µl)	0,1µl
l'amorce Cyt B1 (<i>sens</i>) (concentrée à 10µM)	1µl
l'amorce Cyt B2 (<i>anti-sens</i>) (concentrée à 10µM)	1µl
MgCl ₂ (concentré à 25 mM)	1,5µl
H2O stérile	13,4µl
extrait d'ADN	5µl
Volume final	25µl

Le programme d'amplification comprenait une étape de dénaturation initiale à 95 °C pendant 3 minutes 30 secondes, suivie de 40 cycles d'amplification. Chaque cycle d'amplification comprenait une étape de dénaturation à 95 °C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à 58 °C pendant 50 secondes et une étape d'extension à 72 °C pendant 1 minute. Une étape d'extension finale a été réalisée à 72 °C pendant 5 minutes. A la fin de chaque réaction d'amplification, les produits d'amplification étaient visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2% contenant du bromure d'éthidium.

II-2-3-2. Formation des hétéroduplexes

Pour permettre la formation des hétéroduplexes, le mélange suivant a été réalisé dans chaque tube :

- 8 µl de TE (Tris 10mM, EDTA 1mM) ;
- 4 µl du produit d'amplification du gène du cytochrome b oxydase du rat de Gambie (driver) ;
- 4 µl du produit d'amplification du gène cytochrome b oxydase des repas de sang ou des hôtes vertébrés utilisés comme références.

Les mélanges ont été incubés à 98 °C pendant 3 minutes 30 secondes pour permettre la dénaturation des doubles brins d'ADN. A la suite de cette dénaturation, un refroidissement lent à la température ambiante pendant au moins une demi-heure a été fait pour permettre la formation des homoduplexes et des hétéroduplexes. Il s'agit ici de l'appariement de deux brins d'origines différentes (hétéroduplexes) : l'un provenant du driver et l'autre de celui du vertébré sur lequel s'est nourri la glossine. Les homoduplexes sont formés par les brins homologues, provenant du même individu.

II-2-3-3. Résolution des produits d'amplification par électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Le gel de polyacrylamide à 5% a été fait en mélangeant 12 ml de Tris Borate EDTA® (TBE) 10X, 15 ml acrylamide/bis acrylamide (19:1) à 30%, 24 ml d'urée 5M, 140 µl de TEMED, 1860 µl d'APS (10%) et 67 ml d'eau distillée. Le mélange contenant ces différents produits a été agité à l'aide d'un barreau magnétique introduit dans un *erlenmeyer* posé sur un agitateur magnétique. Le mélange a été par la suite coulé dans le moule vertical d'électrophorèse avec un peigne pour former les puits. Après polymérisation du gel (environ 1 heure), les puits ont été lavés avec le tampon de migration TBE 1X. Les échantillons ont été par la suite mélangés au tampon de dépôt (Bleu de Bromophénol/Xylène Cyanol) et déposés dans les puits. Un marqueur de poids moléculaire ainsi que les différents témoins ont été également déposés dans les puits. La migration a été faite à 35 volts, 25 mA pendant 17 heures. A la fin de la migration, le gel a été démoulé et trempé dans une solution de bromure d'éthidium (1 µg/ml) pendant 20 minutes puis lavé dans de l'eau distillée pendant 15 minutes. Il a été ensuite observé sous la lumière ultraviolette, puis photographié. L'identification de l'origine des repas de sang a été faite en comparant les profils électrophorétiques des échantillons de repas de sang avec ceux des animaux de référence.

II-2-4. Amplification des gènes mitochondriaux de *G. palpalis palpalis*

L'ADN mitochondrial a été extrait des pattes de glossines par la méthode de CTAB (Maniatis *et al.*, 1982) dont le protocole est donné à l'annexe 1. Six gènes mitochondriaux (COI, COII-TLII, 16S2, 16S1, CYB et 12S) ont été amplifiés selon le protocole décrit par Marquez *et al.* (2004) et Krafur (2002). Les séquences d'amorces utilisées pour amplifier ces gènes sont enregistrées dans le tableau IV. Chaque réaction d'amplification a été réalisée dans un volume final de 25µl contenant 2,5µl de tampon PCR 10X, 0,5µl de dNTPs concentrés à 10mM, 1,5µl de MgCl₂ concentré à 25mM, 1µl de chaque amorce (sens et anti-sens) concentrée à 10µM, 2,5 µl de l'ADN matrice, et 0,1 µl d'ADN polymérase (Taq) concentré à 5U/µl. Les amplifications ont été effectuées dans un thermocycleur programmable de marque TC-412 TECHNE. Le programme d'amplification contenait une étape de dénaturation initiale à 95 ° C pendant 5 minutes suivie de 35 cycles d'amplification. Chaque cycle d'amplification contenait une étape de dénaturation à 95°C pendant 45 secondes, une étape d'hybridation à 48°C pendant 1 minute pour les marqueurs COI, 12S et 16S2; à 50°C pour COII-TLII et CYB; et à 55°C pour le marqueur 16S1 puis 1 minute d'allongement à 72°C, et enfin une extension finale à 72°C pendant 5 minutes. A la fin des réactions de PCR, 7 µl du produit d'amplification ont été mélangés au tampon de charge de gel et le mélange a été migré sur un gel d'agarose à 2% pour évaluer la qualité de l'amplification. Le gel a été coloré avec du bromure d'éthidium, visualisé sous lumière UV puis photographié.

Tableau IV : Séquences d'amorces des marqueurs d'ADNmt (Simon *et al.*, 1994)

Spécificité	Désignation	Séquences des couples d'amorces
COI	C1J1751	5'-GGATCACTGATATAGCATTCCC-3'
	C1N2191	5'-CCCGGTAAAATTTAAAATATAAACTTC-3'
16S2	N1J12585	5'-GGTCCCTTACGAATTTGAATATATCCT-3'
	LRJ12866	5'-ACATGATCTGAGTTCAAACCGG-3'
COII-TLII	TL2J3034	5'-AATATGGCAGATTAGTGCA-3'
	C2N3389	5'-TCATAAGTTCAGTATCATTG-3'
CYB	CBJ10933	5'-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3'
	CBN11367	5'-ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT-3'
12S	SRJ14233	5'-AAGAGCGACGGGCGATGTGT-3'
	SRN14588	5'-AAACTAGGATTAGATACCCTATTA-T-3'
16S1	LRJ12887	5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACG-T-3'
	LRN13398	5'-CGCCTGTTTAACAAAACAT-3'

II-2-5. Résolution par la méthode du SSCP

Le génotypage a été réalisé grâce à la méthode du polymorphisme de conformation des simples brins (Single Strand Conformational Polymorphism SSCP). Cette méthode offre l'avantage d'être pratique et sensible pour déterminer la variation génétique en permettant la détection du polymorphisme de l'ADN et donc indirectement des mutations au niveau des sites multiples dans des fragments d'ADN (Orita, *et al.*, 1989 ; Orti *et al.*, 1997). Cette technique est fondée sur le comportement électrophorétique d'un fragment d'ADN monocaténaire dans un gel d'acrylamide non dénaturant. Cette molécule d'ADN monocaténaire peut former des structures secondaires dues à des appariements de base au sein de la molécule. Ces structures secondaires dépendent de la séquence propre au brin d'ADN et donnent une conformation particulière à chaque type de molécule monocaténaire. Ainsi deux séquences d'ADN très proches peuvent se différencier sur la base de la conformation de leur forme monocaténaire : deux allèles d'un gène seront distingués.

Pour la réalisation, les produits d'amplification qui sur gel d'agarose ont montré une bonne amplification ont été mélangés à 6 µl de tampon de charge constitué du NaOH à 10 mM, du formamide à 95%, du bleu de bromophénol à 0,05% et du xylène cyanol à 0,05%. Le mélange a été chauffé à 95°C pendant 5 minutes, refroidi dans la glace à 0°C, puis immédiatement chargé sur un gel de polyacrylamide à 8% contenant 5% de glycérol, comme décrit dans Black et DuTeau (1996). L'électrophorèse a été réalisée à 250 millivolts pendant 17 heures avec un système de refroidissement réglé à 2°C. A la fin de chaque électrophorèse, le gel a été coloré pendant 30 minutes dans du tampon TBE 1 X contenant 1 µg/ml de bromure d'éthidium. Après coloration, l'excès de bromure d'éthidium a été éliminé en lavant le gel dans de l'eau distillée. Les gels ont ensuite été observés et photographiés sur lumière UV.

II-2-6. Séquençage de quelques individus

Pour confirmer le polymorphisme révélé sur gel de polyacrylamide par la technique du SSCP, des échantillons d'ADN de quelques glossines ont été utilisés pour évaluer la résolution du SSCP, y compris tous les différents profils. L'amplification a été réalisée dans un volume final de 50 µl comme décrit ci-dessus. Les produits d'amplification ont été purifiés avec de l'éthanol absolu et 3 M de NaCl puis le culot a été remis en suspension dans 30 µl d'eau stérile. Le séquençage a été effectué dans les deux directions avec l'ensemble des amorces utilisées pour amplifier chaque gène. Il a été réalisé dans un laboratoire agréé, par la société commerciale GATC-biotech.

II-2-7. Analyse des données

Le logiciel Excel® de la suite Microsoft Office® nous a permis d'établir la base de données utilisée au cours de cette étude. Cette base de données comportait pour chaque glossine son numéro d'identification, la référence du piège qui l'a capturé (numéro et coordonnées géographiques), son village de provenance, l'espèce à laquelle elle appartient, son sexe. A Bipindi particulièrement, cette base de données était complétée par des informations telles que les caractéristiques environnementales des sites de capture (pour les deux périodes de capture), la présence ou non chez les glossines de trypanosomes observables au microscope optique.

II-2-7-1. Analyse des données entomologiques et parasitologiques obtenus à Bipindi

Nous rappelons que dans le foyer de Bipindi, les pièges ont été installés aux mêmes positions au cours des deux enquêtes entomologiques. Pour obtenir des informations plus précises sur les conditions qui prévalaient au cours de ces deux périodes de piégeage, des données sur le climat (températures et précipitations) de la région ont été recueillies auprès du service météorologique national du Cameroun et un diagramme ombrothermique a été établi (annexe 2).

La densité apparente par piège par jour (DAP) a été utilisée pour évaluer l'abondance relative des mouches tsé-tsé dans chaque type de biotope. Les DAP ont été calculées en divisant le nombre de glossines capturées (C) dans un village par le nombre de pièges utilisés (P) et par le nombre de jours de capture (J) : $DAP = \frac{C}{PJ}$

Le risque de transmission de la maladie du sommeil a été évalué à l'aide de l'indice entomologique simplifié r , qui est proportionnel à la densité apparente des glossines ténérales et à la fréquence des contacts entre les humains et les mouches tsé-tsé (Laveissière *et al.*, 1994 ; 1997 ; Grébaut *et al.*, 2004).

$$r = 10^4(t + 1)^{1.23} \cdot n^2 \cdot \frac{C^{0.46}}{PJ^{3.69}}$$

Dans cette formule, t représente le nombre de glossines ténérales, n le nombre de repas de sang pris sur un humain, C le nombre de glossines capturées dans un village, P le nombre de pièges utilisés, J le nombre de jours de capture.

Pour visualiser le risque de transmission de la maladie du sommeil sur la carte du foyer de Bipindi, une analyse thématique a été effectuée à l'aide de la version 8.5 du logiciel MapInfo Professional. Cette analyse a été effectuée au niveau du piège et pour les deux périodes d'enquêtes entomologiques afin d'évaluer la variation spatiale et temporelle de r .

Le taux d'infection des glossines par des trypanosomes a été calculé en divisant le nombre de glossines infectées par le nombre de glossines examinées, le tout multiplié par 100.

Des analyses statistiques ont été effectuées pour comparer les données entomologiques et parasitologiques entre les deux enquêtes en fonction de la période de piégeage :

- Le test t de Student pour les échantillons appariés (pièges placés à la même position au cours des deux enquêtes) a été utilisé pour comparer les DAP entre les périodes de piégeage ;
- Le pourcentage de glossines piégées et de glossines ténérales, les taux d'infection trypanosomique ainsi que les proportions de repas sanguins ont été comparés entre les deux enquêtes par le test de Chi-carré ;
- Pour les échantillons de petite taille, la correction de Yates ou le test exact de Fisher ont été utilisés.

Les tests t de Student ainsi que les tests de Chi-carré ont été effectués en ligne en utilisant le site de calcul VassarStats [<http://vassarstats.net/>]. Le seuil de signification a été fixé à 5%.

II-2-7-2. Analyse des données génétiques

II-2-7-2-1. Analyse des données du SSCP

Pour chaque individu, deux bandes correspondant aux deux ADN simple brin complémentaires ont été observées sur le gel de polyacrilamide. La position de chaque couple d'ADN simple brin a permis de déterminer le profil électrophorétique (ou allèles putatifs) généré à chaque locus pour chaque individu. Ces profils ont été nommés par lettres alphabétiques. Pour un marqueur donné, les profils identiques avaient la même lettre nominative. Il est à préciser que la lettre A, par exemple, correspondant à un profil d'un marqueur X, n'a rien à voir avec un profil également nommé A mais à un marqueur Y.

L'haplotype de chaque mouche tsé-tsé a été déterminé en combinant les lettres nominatives des profils à chaque marqueur (génotype multi-locus).

La résolution moyenne de la technique SSCP a été estimée en divisant le nombre total de profils de gel par le nombre de génotypes obtenus après séquençage comme réalisé par Marquez *et al.* (2004).

II-2-7-2-2. Analyse des séquences d'ADN

Après le séquençage, nous obtenons pour un individu, deux séquences (une pour chaque brin). Ces deux séquences partielles complémentaires ont été assemblées en utilisant le logiciel CODON CODE Aligner (version 7.0.1) pour avoir la séquence totale de la zone d'intérêt. Les séquences finales des différents individus ont été alignées par le logiciel clustalW dans MEGA, dans le but d'évaluer la diversité génétique. Les séquences à différents loci ont été combinées pour chaque individu afin d'obtenir la séquence de l'haplotype. Cela a été possible parce que les locus mitochondriaux sont en total déséquilibre de liaison puisque les allèles à un locus particulier ne sont pas indépendants des allèles des autres locus.

II-2-7-2-3. Structure génétique des populations

La structure génétique des populations a été étudiée en analysant la variance moléculaire des fréquences des haplotypes telle que définie par Cockerham (1969 ; 1973) et modifiée par d'autres auteurs (Weir & Cockerham, 1984 ; Long, 1986). L'approche de l'analyse de la variance moléculaire utilisée dans le logiciel Arlequin (AMOVA, Excoffier *et al.*, 1992) est essentiellement similaire à d'autres approches basées sur des analyses de variance des fréquences géniques, mais elle tient compte du nombre de mutations entre haplotypes. La structure génétique hiérarchique a été testée en considérant les niveaux hiérarchiques : trois « pays » (Cameroun, RDC et Côte d'Ivoire) et sept « populations » ont été considérés. Les sept populations sont des échantillons des foyers de THA de Bipindi, Campo, Fontem et Bafia au Cameroun, Malanga en RDC, Azaguié et Nagadoua en Côte d'Ivoire. La statistique F a été estimée à trois niveaux hiérarchiques: entre les pays (F_{CT}), entre les populations des différents foyers du même pays (F_{SC}) et au sein des populations (F_{ST}). F_{CT} est la corrélation de paires d'haplotypes choisis au hasard dans un pays par rapport à la corrélation des haplotypes dans la population globale, elle est donc une mesure de la différenciation génétique entre les populations de glossines des trois pays. F_{SC} est la corrélation des haplotypes au sein des populations par rapport à celle du pays dans son ensemble et est donc une mesure de la différenciation génétique entre les populations de glossines du même pays. La F_{ST} est la corrélation moyenne des haplotypes au sein des populations par rapport à celle des haplotypes dans la population globale et est donc une mesure de la différenciation génétique globale entre toutes les populations. Les valeurs de F varient de 0 à 1. Zéro lorsque les populations ne sont pas structurées, et 1 lorsque les populations sont complètement structurées.

La F_{ST} par paires est utilisée comme distance génétique à court terme entre les populations avec une légère transformation pour linéariser la distance avec le temps de divergence de la population (Slatkin, 1995). Cela nous a permis de tester l'importance de la corrélation entre la distance génétique et les matrices de distances géographiques en utilisant le test de Mantel (Mantel 1967 ; Smouse *et al.*, 1986). Il a été réalisé en utilisant le service web de la version 3.23 d'IBDWS (<http://ibdws.sdsu.edu/~ibdws/distances.html>).

La F_{ST} par paires a également permis d'estimer la quantité moyenne de flux de gènes entre les paires de population. Le nombre moyen théorique de femelles migrantes reproductrices échangées entre les populations par génération (Nm) a été obtenu à partir de la relation suivante, $Nm \simeq (1-F_{ST}) / 2F_{ST}$ selon le modèle insulaire de la structure de la population (Wright, 1951).

II-2-7-2-4. L'histoire démographique de la population

Les diversités haplotype H et nucléotide π_n ont été utilisées pour estimer l'histoire démographique des populations étudiées. H est la probabilité que deux individus choisis au hasard dans un échantillon aient des haplotypes différents (Nei, 1987). π_n est la probabilité que deux sites nucléotidiques homologues choisis au hasard soient différents. (Tajima 1983, Nei 1987).

$$H = n \left(\frac{1 - \sum p_i^2}{n-1} \right)$$

Où n est le nombre d'individus, p_i la fréquence du i ème haplotype

$$\pi_n = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i} p_i p_j d_{ij}}{L}$$

Où k est le nombre d'haplotypes, p_i la fréquence de l'haplotype i , p_j la fréquence de l'haplotype j , L nombre de loci

- Un faible H et un fort π_n , peuvent signaler un crash rapide ayant été à l'origine de l'élimination d'un grand nombre d'haplotypes sans nécessairement affecter la diversité nucléotidique ;
- Un fort H et un faible π_n , peuvent être le résultat d'une croissance rapide de la population à partir d'une population ancestrale à faible effectif et où le temps n'a pas été suffisant pour retrouver une forte diversité entre haplotypes ;
- Un fort H et un fort π_n , signaleraient une population stable avec une grande taille effective ;

- Un faible H et un faible π_n , pourraient signaler un « bottleneck » (goulot d'étranglement) démographique sévère et prolongé (Salducci *et al.*, 2004).

Dans ce travail, l'histoire démographique des populations échantillonnées a été explorée par une analyse de « mismatch distribution » ou distribution des disparités (c'est-à-dire la distribution des différences entre les haplotypes des individus d'une même population pris deux à deux). Cela calcule normalement la répartition du nombre de différences observées entre les paires d'haplotypes dans l'échantillon. Elle estime également les paramètres d'une expansion démographique (ou spatiale) soudaine à l'aide d'une approche généralisée à moindre carré, comme décrit dans Schneider & Excoffier (1999). Pour visualiser une expansion, la « mismatch distribution » est représentée sous la forme d'un graphique des différences entre les haplotypes. Ce graphique est multimodal dans les échantillons issus de populations à l'équilibre démographique et unimodal dans les populations ayant traversé une récente expansion démographique (Slatkin & Hudson, 1991 ; Rogers & Harpending, 1992).

La somme des écarts carrés (SSD) entre la « mismatch » observée et attendue a été utilisée comme test statistique de validation du modèle d'expansion. La SSD évalue une hypothèse nulle d'une expansion de population. Elle évalue l'écart de la courbe observée par rapport à la courbe attendue. Ainsi, une différence significative ne veut pas dire « expansion démographique », car la courbe observée s'écarte significativement de la courbe attendue, observée sous un modèle d'expansion démographique. Si nous trouvons des valeurs de SSD non significatives alors les données supporteraient l'hypothèse d'une expansion démographique.

Pour détecter les expansions ou les contractions démographiques récentes des populations, le test F_s de Fu (Fu, 1997) pour la neutralité sélective et la statistique R_2 de Ramos-Onsins et Rozas pour l'équilibre démographique ont été utilisés en raison de leur pouvoir dans la détection de la croissance démographique (Ramos-onsins & Rozas, 2002). Ils ont été calculés en supposant qu'il n'y a ni recombinaison, ni migration intra génique et que le taux de mutation est homogène à travers les régions d'ADN. Une population qui a connu une expansion démographique affiche des valeurs significatives de R_2 et une valeur négative et significative F_s . F_s vaut 0 dans une population de taille constante (Excoffier *et al.*, 2005).

Toutes ces analyses ont été réalisées grâce aux logiciels ARLEQUIN version 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005) et DNASP version 5 (Librado & Rozas, 2009).

II-2-7-2-5. Analyse phylogénétique et phylogéographique

La reconstruction phylogénétique a été réalisée par des méthodes de maximum de vraisemblance (ML) et le modèle de paramètre Tamura-3, implémentées dans le logiciel MEGA X. La méthode bootstrap (1000 répétitions) a été choisie pour tester la robustesse des arbres phylogénétiques. L'arbre initial pour la recherche heuristique a été obtenu automatiquement en appliquant des algorithmes « Neighbor-Join » à une matrice de couples de distances estimées en utilisant l'approche MCL (Maximum Composite Likelihood). Une distribution discrète de Gamma a été utilisée pour modéliser les différences de taux d'évolution entre les sites (5 catégories (+ G, paramètre = 0.0500)). Pour cette analyse, nous avons considéré un groupe externe formé par la concaténation des séquences de *Glossina fuscipes fuscipes* au niveau des loci d'arbre (GeneBank ID KP979584.1; EU559619.1 et EU591906.1 respectivement pour les marqueurs COI, COII-TLII et 16S).

Le réseau de liaison médiane (« median-joining ») implémenté dans le logiciel NETWORK version 5.0.0.1 (<http://www.fluxus-engineering.com>) a été utilisé pour visualiser la distribution des haplotypes entre les populations et les relations phylogéniques entre ces haplotypes.

II-2-7-3. Corrélation entre Indices de Risque de Transmission et différents facteurs

L'analyse de la variance (ANOVA univarié) a été utilisée pour déterminer si des facteurs qualitatifs que sont l'haplotype de la glossine, le piège ou le village ont des effets significatifs sur la variable dépendante quantitative qu'est l'IRT. Le seuil de signification du test a été fixé à 5%.

Ce test a été réalisé grâce au logiciel SPSS (IBM Corp. Publié en 2011. IBM SPSS Statistics pour Windows, version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp)

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III-1. Résultats

III-1-1. Diversité spécifique et DAP des glossines à Bipindi

Au cours des deux enquêtes entomologiques, 72 pièges ont été déployés et 1421 mouches tsé-tsé ont été capturées dont 1010 en juillet et 411 en mars (tableau V). Une différence significative a été observée entre la proportion de glossines piégées en juillet (71,1%) et en mars (28,9%) ($\chi^2 = 505$, $p < 0,0001$). Trois différents taxons de mouches tsé-tsé, dont *Glossina palpalis palpalis*, *Glossina pallicera* et *Glossina nigrofusca* ont été capturées durant les deux périodes de piégeage, *G. p. palpalis* était l'espèce prédominante (99,2% en juillet et 98,8% en mars). En prenant chaque espèce de tsé-tsé seule, la proportion de glossines capturées était similaire dans les deux périodes de piégeage ($p > 0,05$).

Tableau V : Diversité spécifique des glossines capturées pendant les deux périodes

Période de capture	Effectif	Effectifs (pourcentages) par espèce de glossines		
		<i>G. palpalis palpalis</i>	<i>Glossina pallicera</i>	<i>Glossina nigrofusca</i>
JUILLET	1010 (71,1%)	1002 (99,2%)	6 (0,6%)	2 (0,2%)
MARS	411 (28,9%)	406 (98,8%)	3 (0,7%)	2 (0,5%)
Total	1421	1408 (99%)	9 (0,7%)	4 (0,3%)

La densité apparente des glossines par piège et par jour (DAP) globale était significativement plus élevée en juillet 3,24 que sa valeur en mars 1,43 ($t = 4,06$, $p < 0,0001$) (tableau VI). Sur les 253 glossines ténérales, 202 ont été capturées en juillet alors que seulement 51 ont été capturées en mars. La proportion de glossines ténérales était significativement plus élevée en juillet ($\chi^2 = 11,5$, $p = 0,0007$).

Tableau VI : DAP et proportion des glossines ténérales pendant les deux périodes

Villages	Nombre de glossines capturées		DAP		Proportion de glossines ténérales (%)	
	Juillet	Mars	Juillet	Mars	Juillet	Mars
Lambi	517	218	4,79	2,27	21.9	11.0
Memel	200	106	1,85	1,10	14.0	14.2
Ebiminbang	293	87	3,05	0,91	20.8	13.8
Total	1010	411	3,24	1,43	20.0	12.4

III-1-2. Taux d'infection des glossines et origine des repas sanguins à Bipindi

Des 1082 glossines disséquées, la microscopie a révélé 28 infections par les trypanosomes; les taux d'infection étaient significativement plus élevés en mars (2,6%) par rapport à juillet (0,7%) ($\chi^2 = 4,24$, $p = 0,035$).

La PCR a permis d'identifier 8,2% (71/808) et 12,0% (35/274) d'infection trypanosomienne en juillet et mars respectivement. En comparant les taux d'infection pour chaque espèce de trypanosome, aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux périodes de piégeage pour *T. congolense* « type forêt » ($\chi^2 = 3,34$, $p = 0,067$), *T. congolense* « type savane » ($\chi^2 = 0,95$, $p = 0,33$) et *T. b. gambiense* ($p = 1$). Cependant, les taux d'infection étaient significativement plus élevés en mars pour *T. vivax* ($\chi^2 = 6,01$, $p = 0,01$) et *T. brucei* s.l. ($\chi^2 = 9,16$, $p = 0,003$) tableau VII.

Tableau VII : Taux d'infection des glossines par différentes espèces de trypanosomes

Villages		Lambi	Memel	Ebiminbang	Total	
Nombre de glossines disséquées	Juillet	404	172	232	808	
	Mars	140	79	55	274	
Taux d'infection (%)	<i>TcF</i>	Juillet	0,5	0	2,2	0,9
		Mars	2,1	1,3	5,5	2,6
	<i>TcS</i>	Juillet	0,2	0,6	2,2	0,9
		Mars	1,4	1,3	3,6	1,8
	<i>TVW</i>	Juillet	3	2,9	5,2	3,6
		Mars	0	2,5	0	0,7
	<i>Tb s.l.</i>	Juillet	1,7	1,7	5,6	2,8
		Mars	6,4	12,7	0	6,9
	<i>Tbg</i>	Juillet	0,5	0,6	0,9	0,6
		Mars	0,7	1,3	0	0,7

TcF: *Trypanosoma congolense* " type forêt "; *TcS*: *T. congolense* " type savane "; *TVW*: *T. vivax*; *Tb sl*: *T. brucei sensu latum*; *Tbg*: *T. brucei gambiense*. *Tbg* a été identifié parmi les individus positifs à *Tb s.l.*

Sur les 1082 mouches tsé-tsé disséquées, 88 (8,1%) présentaient des repas sanguins résiduels après observation au microscope. La proportion des glossines avec les repas de sang n'était pas significativement différente ($p > 0,63$) entre juillet (7,9%) et mars (8,8%). Sur les 88

intestins de glossines (64 en juillet et 24 en mars) contenant des repas sanguins résiduels, le gène du cytochrome b n'a été amplifié avec succès que pour 36 (30 en juillet et 6 en mars). La méthode de PCR hétéroduplexes, traitée uniquement pour les repas sanguins du gène du cytochrome b amplifiés avec succès, a révélé que 10 (7 en juillet et 3 en mars) provenaient de l'homme et 5 (4 en juillet et 1 en mars) du porc, les 21 (19 en Juillet et 2 en mars) non identifiés (tableau VIII). Aucune différence significative n'a été observée entre les périodes de piégeage pour les repas de sang pris sur l'homme ainsi que sur le porc ($p > 0,32$).

Tableau VIII : Origine des repas de sang

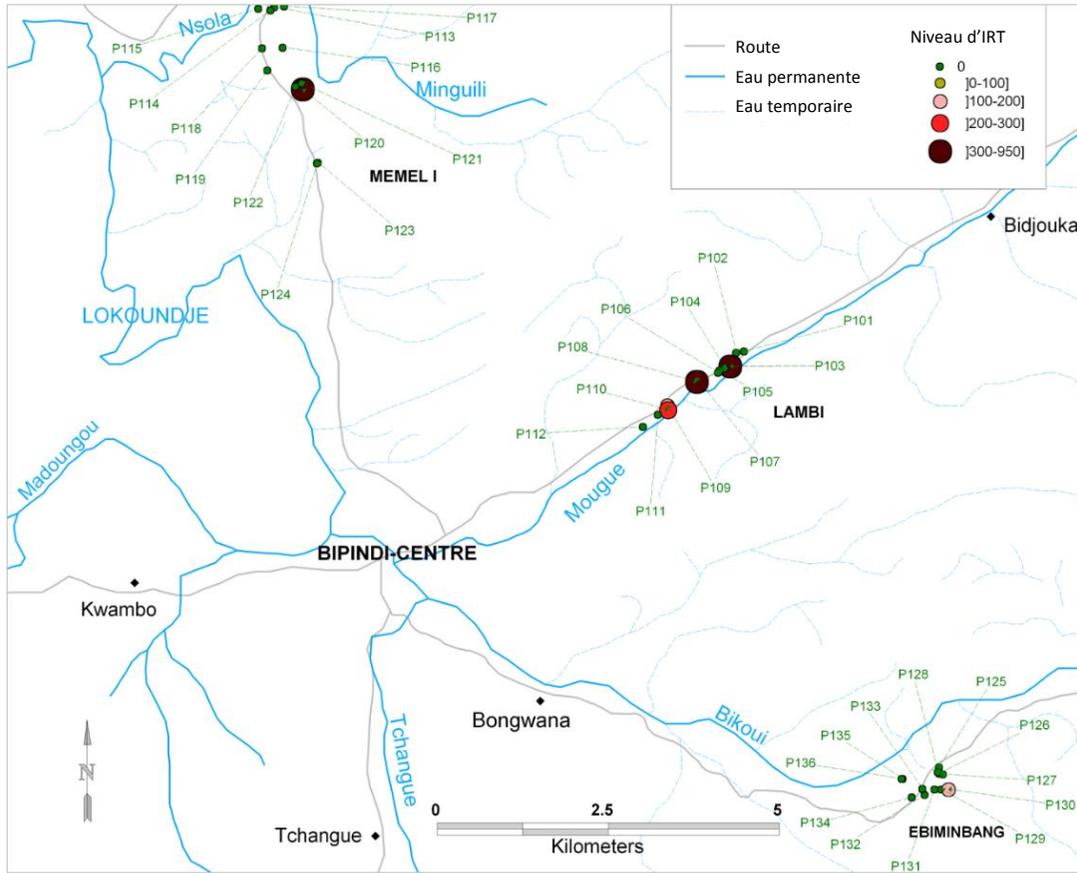
Période	No de RS observés au microscope	No de RS dont l'ADN a été amplifié avec succès	Origine du sang				
			Homme	Porc	Mouton	Chèvre	Indéterminé
Juillet	64	30	7 (23,33%)	4 (13,33%)	0 (0%)	0 (0%)	19 (63,33%)
Mars	24	6	3 (50%)	1 (16,66%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (33,33%)
total	88	36	10	5	0	0	21

No= Nombre RS =repas de sang

III-1-3. Distribution spatiale de l'IRT de la THA à Bipindi

Les figures 20a et 20b illustrent les indices de risque de transmission en fonction des pièges et des villages. Le risque de transmission de la maladie du sommeil varie entre les pièges du même village et entre les villages du même foyer de la maladie du sommeil. L'indice de risque de transmission était plus élevé en juillet ($r = 3,26$) qu'en mars ($r = 0,16$) (figures 20a et b). Le village de Lambi a montré l'indice le plus élevé dans les deux périodes de piégeage ($r = 30,10$ en juillet, $r = 1,21$ en mars). Cet indice était plus élevé à Memel qu'à Ebiminbang en juillet (0,87 et 0,70 respectivement) et en mars (0,13 et 0,00 respectivement).

a)



b)

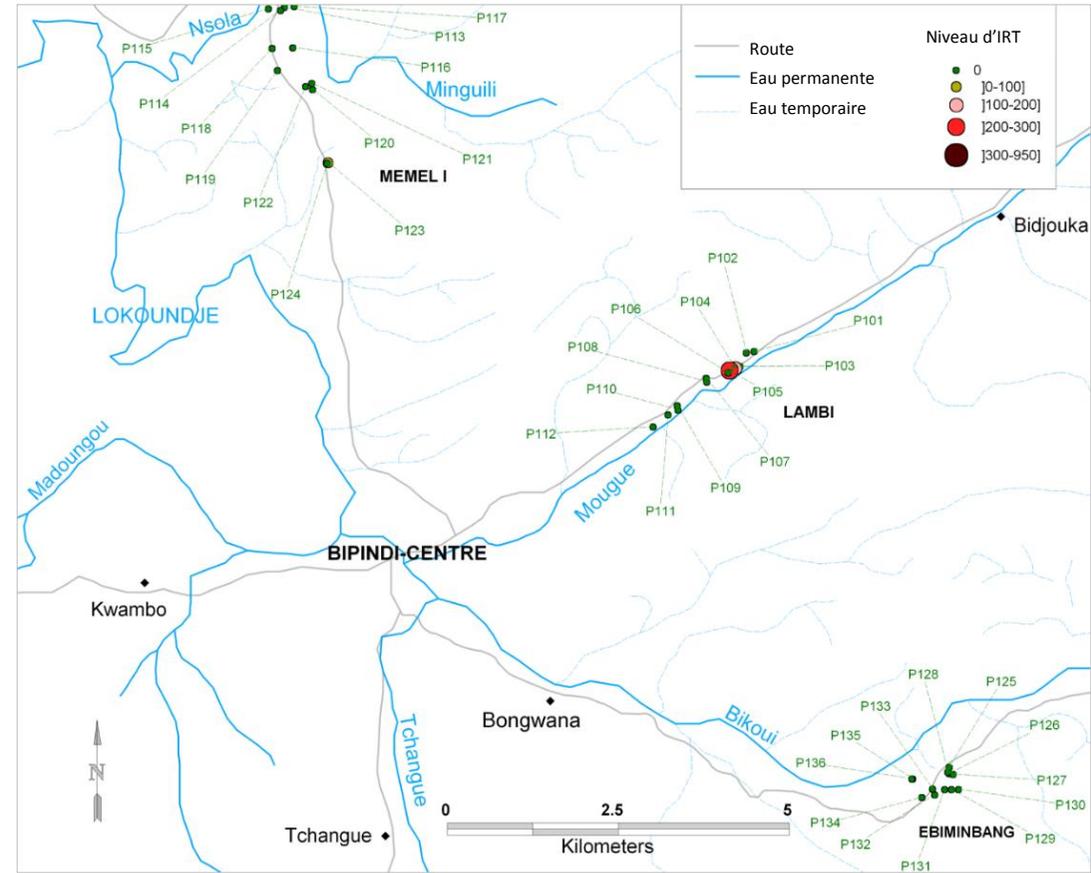


Figure 20 : Indices de risque de transmission par pièges en juillet (a) en mars (b)

III-1-4. Echantillons de glossines analysés grâce aux marqueurs mitochondriaux

Au total 418 *Glossina palpalis palpalis* ont été analysées génétiquement dans ce travail, réparties comme présenté dans le tableau IX.

Tableau IX : Nombre de glossines analysées dans chaque population et sous population.

Pays	Populations	Sous populations	Nombre de glossines analysées	Total
Cameroun	Bipindi	Lambi	56	168
		Memel	56	
		Ebiminbang	56	
	Campo	Akak	10	30
		Mabiogo	10	
		Campo beach	10	
	Fontem	Mendji	10	30
		Bechati	10	
		Folepi	10	
	Bafia	Eloa	10	30
		Bouraka	10	
		Guefigué	10	
RDC	Malanga	Malanga gare	30	60
		Malanga village	30	
Côte d'Ivoire	Azaguié		50	100
	Nagadoua		50	
Total			418	418

III-1-5. Sensibilité et polymorphisme des marqueurs étudiés

III-1-5-1. Sensibilité des marqueurs

Les polymorphismes de conformation à un seul brin ont été évalués à six locus mitochondriaux, 50% (3/6) des marqueurs de l'ADN mitochondrial utilisés ont pu être amplifiés et séparés sur gel d'acrylamide dans toutes les sept populations. Ces marqueurs ont été plus sensibles dans les populations de RDC, où 5 marqueurs (COI, COII-TL2, 16S2, CYB, 16S1) sur les six ont été résolutifs soit 83,33%. Pour la suite de l'étude, nous n'avons tenu compte que des 3 marqueurs résolutifs (COI, COII-TL2 et le 16S2) sur l'ensemble de nos échantillons.

Sur les 418 individus analysés, 379 (90,66%) ont été amplifiés sur tous les trois locus et 9,34% n'ont pas été amplifiés à au moins un locus des trois considérés ici. Le détail de cette sensibilité par marqueur est donné dans le tableau X.

Tableau X : Nombre d'individus amplifiés par les marqueurs mitochondriaux

Loci	COI	COII-TLII	16S2
Echantillons du Cameroun			
Nombre individus analysés	258	258	258
Nombre individus amplifiés	235	241	258
Pourcentage d'amplification (%)	91,08	93,41	100
Echantillons de RDC			
Nombre individus analysés	60	60	60
Nombre individus amplifiés	59	57	60
Pourcentage (%)	98,33	95	100
Echantillons de Côte d'Ivoire			
Nombre individus analysés	100	100	100
Nombre individus amplifiés	99	99	99
Pourcentage (%)	99	99	99

III-1-5-2. Polymorphisme des marqueurs

La figure 21 montre la photo d'un gel de polyacrylamide présentant le polymorphisme (3 profils A, B et C) au marqueur COI dans deux échantillons Campo (4 individus) et Bipindi (13 individus).

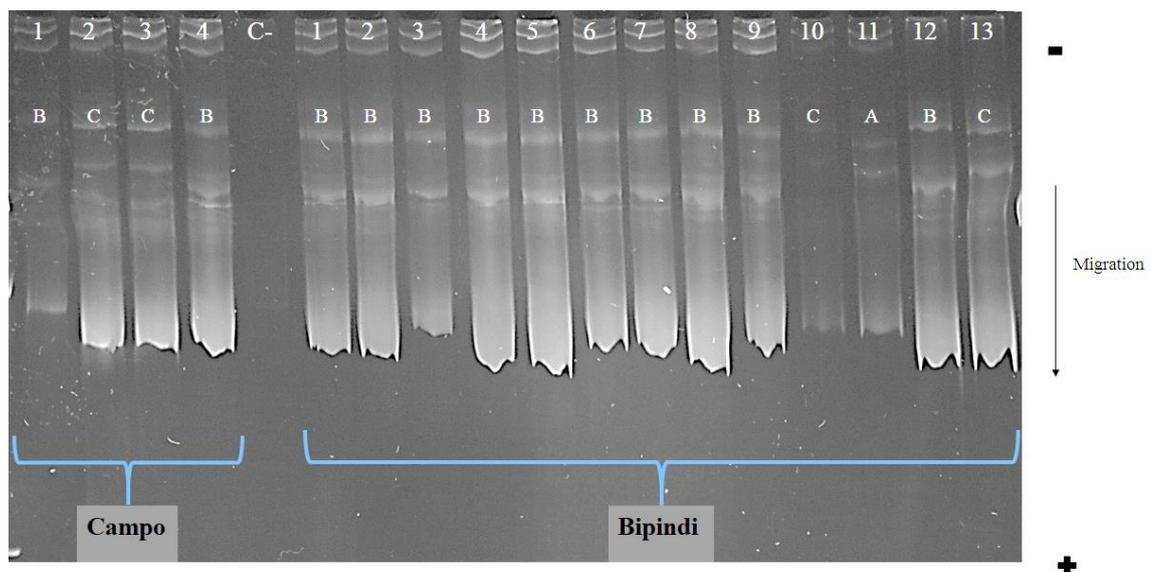


Figure 21 : Gel de polyacrylamide montrant trois profils différents (A, B et C)

Chaque individu présente deux bandes qui correspondent aux deux brins ADN complémentaires. La position de chaque couple d'ADN simple brin a permis de déterminer le profil électrophorétique généré à chaque locus. Les ADN simples brins ont été identifiés et nommés par des lettres alphabétiques. Les positions des bandes sur le gel permettent de distinguer sur cette photo (figure 21) trois profils (ou allèle putatif) différents nommés A, B et C.

Des trois marqueurs analysés dans cette étude, le marqueur COI s'est révélé le plus polymorphe avec un total de 13 profils, génotypiquement nommés de A à M, suivi du marqueur COII-TLII avec 11 profils nommés de A à K et enfin le 16S2, le moins polymorphe avec seulement cinq profils nommés de A à E.

III-1-6. Séquençage

III-1-6-1. Résolution de la technique SSCP

Le séquençage de 62 individus (23 au marqueur COI, 22 au marqueur COII-TLII et 17 au marqueur 16S2) a été réalisé dans le but d'évaluer le niveau de résolution de la technique SSCP. La résolution globale (pour les trois marqueurs) a été estimée à environ 74,35% puisqu'un nombre total de 29 profils de gel ont été trouvés sur les 39 génotypes obtenus après séquençage (tableau XI). Pris individuellement, la technique SSCP a montré une meilleure fiabilité avec le marqueur COI (81%) par rapport à COII-TLII (78,57%) ou à 16S2 (55,55%). Cette technique a par conséquent sous-estimé la diversité nucléotidique.

Tableau XI : Evaluation de la sensibilité de la technique SSCP

Marqueurs	Nombre de profils SSCP	Nombre de glossines séquencées	Nombre de génotypes obtenus après séquençage	Résolution
COI	13	23	16	81,25%
COII-TLII	11	22	14	78,57%
16S2	5	17	9	55,55%
Total	29	62	39	74,35%

III-1-6-2. Taille des gènes amplifiés

Le séquençage a permis de déterminer la taille des segments d'ADN amplifiés chez *Glossina palpalis palpalis*:

- COI: 487 paires de base
- COII-TLII: 389 paires de base
- 16S2: 314 paires de base

III-1-6-3. Origine du polymorphisme observé

Après alignement des séquences, nous avons pu identifier que le polymorphisme observé sur gel d'acrylamide était dû à des mutations par substitution (figure 22).

```

n23Cam16S: TCAAATAAAAACAATACTATTTGTAAATTATTACATACATAAAATTCTAAATTTATTACAC
n9Cam16S:  TCAAATAAAAACAATACTATTTGTAAATTATTACATACATAAAATTCTAAATTTATTACAC
n26Fon16S: TCAAATAAAAACAATACTATTTGTAAATTACATACATACATAAAATTCTAAATTTATTACAC
n19RDC16S: TCAAATAAAAACAATACTATTTGTAAATTATTACATACATAAAATTCTAAATTTATTGCAC
n21RDC16S: TCAAATAAAAACAATACTATTTGTAAATTATTACATACATAAAATTCTAAATTTATTGCAC
*****

```

Figure 22 : Quelques séquences alignées montrant des substitutions de nucléotides

Cette figure montre la substitution de la thymine en cytosine chez l'individu numéro 26 provenant de Fontem et ceci sur locus 16S2, ainsi que la substitution des adénosines et guanines chez les glossines provenant de la RDC.

III-1-6-4. Nombre de sites polymorphes

Le tableau XII ci-dessous récapitule le nombre de sites polymorphes. Lorsqu'on fait le rapport avec le nombre de séquences dans chaque population, Bafia est le foyer où on a noté un plus grand nombre de sites polymorphes dans les séquences. Par contre, les séquences à Fontem n'avaient aucun site polymorphe.

Tableau XII : Nombre de sites polymorphes par population sur l'ensemble des marqueurs

Groupes	Populations	No de séquences	No de loci	No de nucléotides	No de sites polymorphes
Cameroun	BIPINDI	138	3	1190	53
	CAMPO	26	3	1190	19
	FONTEM	30	3	1190	0
	BAFIA	29	3	1190	25
RDC	MALANGA	57	3	1190	17
Côte d'Ivoire	AZAGUIE	49	3	1190	11
	NAGADOUA	50	3	1190	15
Moyenne		54,143	3,000	1190	20,000
Ecart type		36,037	0,000	0,000	15,260

No : nombre

III-1-7. Distribution des haplotypes

III-1-7-1. Proportion des individus aux différents haplotypes

L'haplotype d'un individu est lu à partir de la combinaison des noms de ses profils à chaque marqueur (génotype multi locus) dans notre cas aux marqueurs COI, COII-TLII et 16S2. Nous avons eu au total 34 haplotypes répertoriés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Liste et proportion des haplotypes sur l'ensemble de l'étude

Numéro des haplotypes	Haplotype	Effectifs	Proportions
h1	AAA	2	0,5%
h2	ACA	6	1,6%
h3	ACB	1	0,3%
h4	ADB	9	2,4%
h5	BAA	15	4,0%
h6	BAB	2	0,5%
h7	BAC	1	0,3%
h8	BBA	5	1,3%
h9	BCA	119	31,4%
h10	BCB	5	1,3%
h11	BCC	1	0,3%
h12	BDA	31	8,2%
h13	BDB	13	3,4%
h14	CCB	2	0,5%
h15	DCA	4	1,1%
h16	ECA	3	0,8%
h17	FCA	2	0,5%
h18	GCA	2	0,5%
h19	HEC	32	8,4%
h20	HED	7	1,8%
h21	HEE	4	1,1%
h22	HFC	2	0,5%
h23	HFD	4	1,1%
h24	IEC	4	1,1%
h25	IED	4	1,1%
h26	JGB	88	23,2%
h27	JHB	1	0,3%
h28	JIB	3	0,8%
h29	JJB	1	0,3%
h30	JKB	1	0,3%
h31	KGB	1	0,3%
h32	KKB	1	0,3%
h33	LGB	1	0,3%
h34	MGB	2	0,5%
Total		379	

Des 34 haplotypes mitochondriaux enregistrés, 09 (26,43%) étaient des singletons (haplotype présent chez un seul individu). 30 haplotypes étaient rares puisqu'ils représentaient moins de 5% du nombre total d'individus. L'haplotype h9 est l'haplotype majoritaire, présent chez 31,39% des individus.

III-1-7-2. Réseau d'haplotypes

Le réseau d'haplotypes (figure 23) a permis une visualisation rapide de la distribution des haplotypes entre les populations et des relations phylogéniques entre elles.

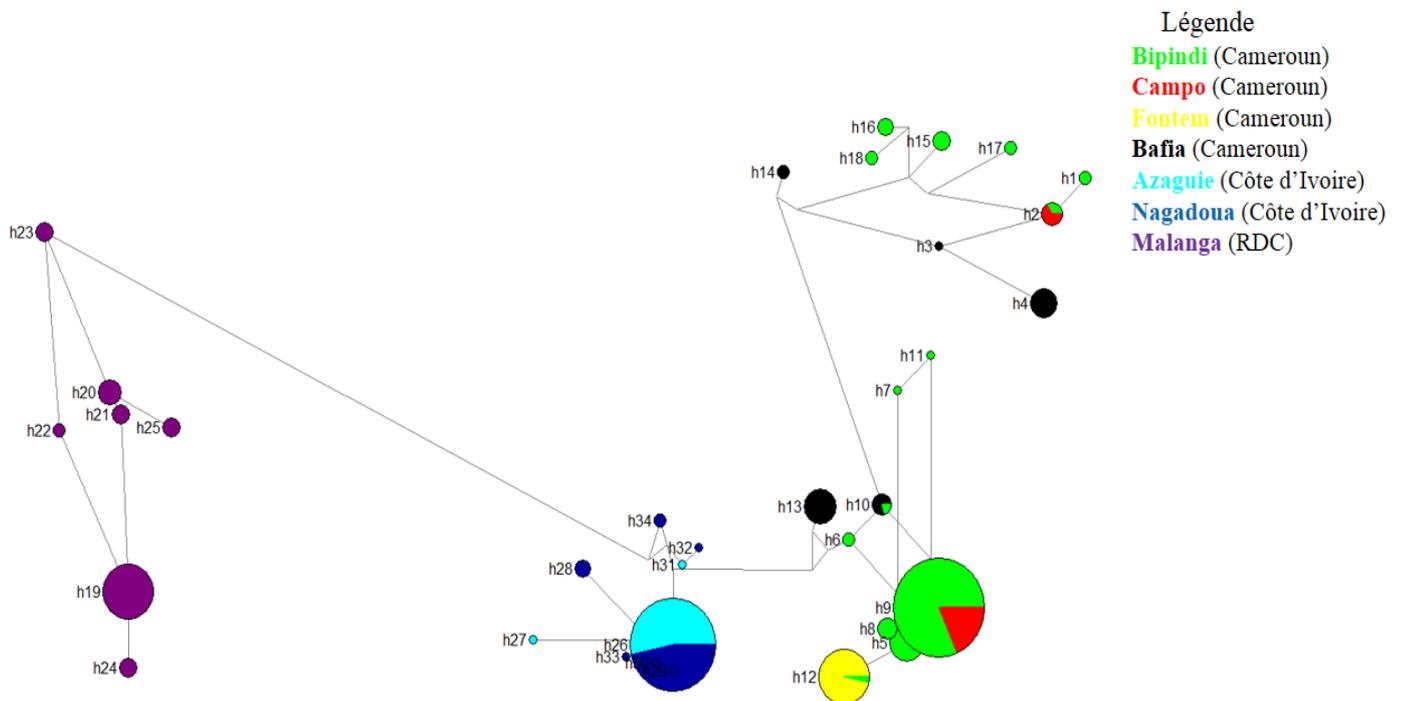


Figure 23 : Réseau d'entrée médiane des haplotypes de *G. p. palpalis*.

Le réseau était basé sur 34 haplotypes (nommés h1 à h34). Les cercles remplis indiquent les haplotypes, la taille de chaque cercle étant proportionnelle à la fréquence observée. Les couleurs dans les cercles correspondent aux différentes populations et la taille des camemberts est proportionnelle à l'occurrence des individus dans les populations.

Des 34 haplotypes enregistrés, neuf (26,47%) étaient des singletons (haplotype présent chez un seul individu). 30 haplotypes étaient «rares» car ils représentaient chacun moins de 5% du nombre total d'individus. Aucun haplotype n'était commun aux populations du Cameroun, de la Côte d'Ivoire et de la RDC.

Au Cameroun, 18 haplotypes ont été enregistrés, dont quatre (22,22%) partagés : deux entre Bipindi et Campo (h2 et h9), un entre Bipindi et Fontem (h12) et un entre Bipindi et Bafia (h10). Les séquences de glossines du foyer de Fontem HAT étaient monomorphes et l'haplotype unique trouvé était partagé avec les glossines de Bipindi. En RDC, sept haplotypes (h19 à h25) ont été enregistrés et un seul d'entre eux n'était pas «rare» (h19). En Côte d'Ivoire, dix haplotypes (h26 à h34) ont été détectés dans les deux populations. Trois haplotypes (h26, h27 et h31) ont été trouvés dans la population des glossines d'Azaguié, tandis que sept haplotypes ont été observés dans celle de Nagadoua. L'haplotype h26 représentant jusqu'à 80% des individus de la Côte d'Ivoire a été partagé entre les deux populations.

La distribution des fréquences relatives des haplotypes dans les différentes populations est consignée en Annexe 3.

III-1-7-3. Indices de diversité génétique

Les valeurs de diversité des haplotypes (H) variaient de 0,00 à Fontem, à 0,70 à Bafia (tableau XIV). La valeur de H en RDC ($H = 0,660$) était deux fois supérieure à la valeur ($H = 0,366$) obtenue au Cameroun et trois fois la valeur ($H = 0,210$) observée en Côte d'Ivoire. La diversité des nucléotides π_n variait également de 0,00 dans Fontem à 0,01 dans Bafia. Au Cameroun, π_n était deux fois plus important à Bafia que dans les autres populations. La valeur obtenue ($\pi_n = 0,00077$) pour la diversité des nucléotides en Côte d'Ivoire était six fois plus petite que celles de la RDC ($\pi_n = 0,00431$) et du Cameroun ($\pi_n = 0,00448$). La diversité globale des haplotypes et des nucléotides dans les trois pays était de $H T = 0,83$ et $\pi T = 0,018$.

Tableau XIV : Indices de diversités haplotypiques et nucléotidiques par population

Pays	Populations	No d'individus	No de sites polymorphes S	No haplotypes k	Diversité haplotypique H	Diversité nucléotidique π_n
Cameroun	BIPINDI	138	53	14	0,49381	0,00408
	CAMPO	26	19	2	0,27077	0,00432
	FONTEM	30	0	1	0,00000	0,00000
	BAFIA	29	25	5	0,70197	0,00955
RDC	MALANGA	57	17	7	0,66040	0,00431
Côte d'Ivoire	AZAGUIE	49	11	3	0,08078	0,00038
	NAGADOUA	50	15	7	0,32735	0,00114
Total		379		34	$HT :$ 0,83069	$Pi T :$ 0,01859

No : nombre

III-1-8. Structure génétique

III-1-8-1. Hiérarchisation des indices de différenciation génétique

L'analyse de la variation moléculaire hiérarchique a montré que 76,25% de la variabilité génétique entre les populations de glossines résultent des différences entre les trois pays (tableau XV). Outre ces différences entre les pays, 12,13% de la variabilité génétique entre les populations de glossines peuvent être attribuées aux différences entre les foyers d'un même pays. Les 11,63% restants peuvent résulter de différences au sein des populations de glossines. Les statistiques F associées ($F_{CT} = 0,76$, $P < 0,05$, $F_{SC} = 0,51$, $P < 0,0001$, $F_{ST} = 0,88$, $P < 0,0001$) indiquent trois niveaux différents de différenciation génétique, toutes les valeurs diffèrent significativement de zéro. Les valeurs des statistiques F supportent également la structure phylogéographique significative de *G. p. palpalis* car la différenciation génétique entre les trois pays était plus élevée que celle entre les populations au sein des pays ($F_{CT} = 0,76$, $F_{SC} = 0,51$). F_{ST} avait la plus grande valeur obtenue (0,88).

Tableau XV : Analyse de la variance (AMOVA) des fréquences haplotypiques

	ddl	Somme des carrés	Variance	% de la variation	Statistique F	Valeur de P
Entre les pays ¹	2	3061,151	13,11	76,24	$F_{CT} = 0,76$	$< 0,05$
Entre les populations à l'intérieur des pays	4	375,614	2,08	12,13	$F_{SC} = 0,51$	$< 0,0001$
A l'intérieur des populations	372	743,864	1,99	11,63	$F_{ST} = 0,88$	$< 0,0001$
Total	378	4180,628	17,19			

ddl : degré de liberté

¹ Les pays sont Cameroun, RDC et Côte d'Ivoire

III-1-8-2. Indice de différenciation F_{ST} entre deux populations

Le F_{ST} par paires a montré que seuls les échantillons de glossines de Bipindi et Campo au Cameroun ($F_{ST} = 0,01656$; $P = 0,153 \pm 0,033$) et ceux d'Azaguié et les échantillons de Côte d'Ivoire ne différaient pas significativement ($F_{ST} = 0,01138$; $P = 0,225 \pm 0,028$) (tableau XVI). En d'autres termes, ces résultats montrent que la distance génétique entre les individus de Bipindi et Campo d'une part et Azaguié et Nagadoua d'autre part n'est pas significativement différente.

Tableau XVI : Valeurs de F_{ST} et de (P) entre deux populations

	BIPINDI	CAMPO	FONTEM	BAFIA	MALANGA	AZAGUIE	NAGADOUA
BIPINDI							
CAMPO	0,01656 (P=0,153) δ						
FONTEM	0,52144 (P<10 ⁻⁴)	0,69252 (P<10 ⁻⁴)					
BAFIA	0,64064 (P<10 ⁻⁴)	0,55859 (P<10 ⁻⁴)	0,64270 (P<10 ⁻⁴)				
MALANGA	0,90122 (P<10 ⁻⁴)	0,89843 (P<10 ⁻⁴)	0,93294 (P<10 ⁻⁴)	0,86076 (P<10 ⁻⁴)			
AZAGUIE	0,83015 (P<10 ⁻⁴)	0,90319 (P<10 ⁻⁴)	0,98446 (P<10 ⁻⁴)	0,70707 (P<10 ⁻⁴)	0,93985 (P<10 ⁻⁴)		
NAGADOUA	0,82064 (P<10 ⁻⁴)	0,87840 (P<10 ⁻⁴)	0,95378 (P<10 ⁻⁴)	0,68046 (P<10 ⁻⁴)	0,93195 (P<10 ⁻⁴)	0,01138 (P=0,225) δ	

δ la différence n'est pas significative

III-1-8-3. Estimation du flux de gènes

Selon les hypothèses simplificatrices du modèle insulaire de structure de population, ces deux valeurs non significatives de F_{ST} (0,01656 et 0,01138) équivalent à l'échange théorique de 29,69 et 43,42 femelles reproductrices par génération respectivement entre Bipindi et Campo, et entre Azaguié et Nagadoua.

III-1-8-4. Test de l'isolement par la distance (test de Mantel)

Le tableau XVII regroupe les valeurs des distances génétiques et géographiques. Une droite de régression a été réalisée à partir de ces données.

Tableau XVII : Valeurs de F_{ST} et de la distance géographique entre paire de populations

	BIPINDI	CAMPO	FONTEM	BAFIA	MALANGA	AZAGUIE	NAGADOUA
BIPINDI	0,00	0,02	1,09	1,78	9,12	4,89	4,58
CAMPO	95,96	0,00	2,25	1,27	8,85	9,33	7,22
FONTEM	273,14	345,73	0,00	1,80	13,91	63,35	20,64
BAFIA	187,66	283,31	181,59	0,00	6,18	2,41	2,13
MALANGA	1058,55	1010,05	1328,14	1183,74	0,00	15,63	13,70
AZAGUIE	1642,69	1607,79	1550,47	1707,59	2402,83	0,00	0,01
NAGADOUA	1852,02	1820,63	1746,46	1908,56	2624,11	221,36	0,00

Les valeurs sous la diagonale représentent les distances génétiques de Slatkin ($F_{ST}/(1-F_{ST})$), les valeurs au-dessus de la diagonale (en gras) représentent le logarithme népérien des distances géographiques ($\ln DG$) exprimées en km.

Le test de Mantel a révélé une corrélation positive et significative ($r = 0,404$, $p = 0,0087$) entre les distances génétiques et géographiques entre les échantillons étudiés, suggérant que la distance géographique aurait eu un impact sur la différenciation génétique observée. La ligne de régression est représentée sur la figure 24. La corrélation suivante a été obtenue: $F_{ST} / 1 - F_{ST} = 30,56 \times \ln (DG) - 80,01$.

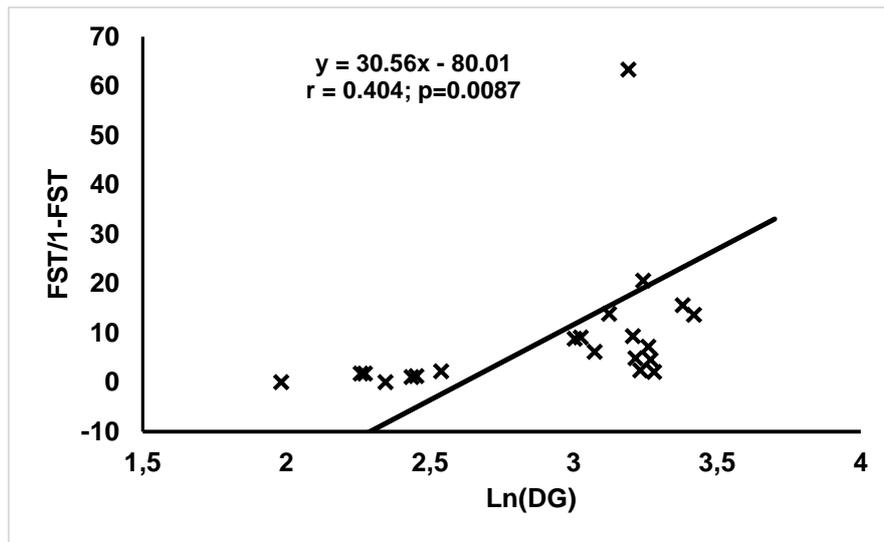


Figure 24 : Relation entre les distances génétiques et géographiques.

$F_{ST}/1-F_{ST}$: mesure de la distance génétique entre les populations ; $\ln(DG)$: logarithme népérien de la distance géographique ; r : coefficient de corrélation.

III-1-9. Histoire démographique des populations

Le résultat de la distribution des disparités « mismatch distribution » (figure 25) a montré des graphiques multimodaux dans toutes les populations de glossines. Cependant, les populations de glossines du foyer de THA de Fontem n'ont révélé aucune diversité génétique détectable puisqu'elles étaient monomorphes.

Une Somme des écarts carrés (SSD) significative a été observée à Bipindi (0,28; $P = 0,00$), Campo (0,10; $P = 0,02$), Bafia (0,21; $P = 0,00$) et Malanga (0,52; $P = 0,00$) (tableau XVIII) indiquant une absence d'expansion démographiques des populations de glossines du Cameroun et de la RDC. La SSD n'était pas significative dans les populations de Côte d'Ivoire (Azaguié et Nagadoua), suggérant une expansion démographique. Ces observations ont ensuite été confirmées au Cameroun et en RDC par des valeurs R_2 et F_S qui n'étaient pas significatives, les valeurs de R_2 étaient de 0,05 ($P = 0,06$) à Bipindi, 0,14 ($P = 0,66$) à Campo, 0,23 ($P = 1,00$) à Bafia et 0,15 ($P = 0,93$) à Malanga. Les valeurs F_S étaient de 1,68 ($P = 0,75$) à Bipindi, 12,11 ($P = 0,99$) à Campo, 12,32 ($P = 0,99$) à Bafia et 5,29 ($P = 0,95$) à Malanga. En revanche, les populations de glossines de Nagadoua en Côte d'Ivoire ont montré une valeur de R_2 significative (0,05; $P = 0,01$); cependant, le F_S de Fu était négatif mais non significatif (-0,96; $P = 0,30$), suggérant ainsi que ces populations peuvent être considérées comme étant en équilibre démographique.

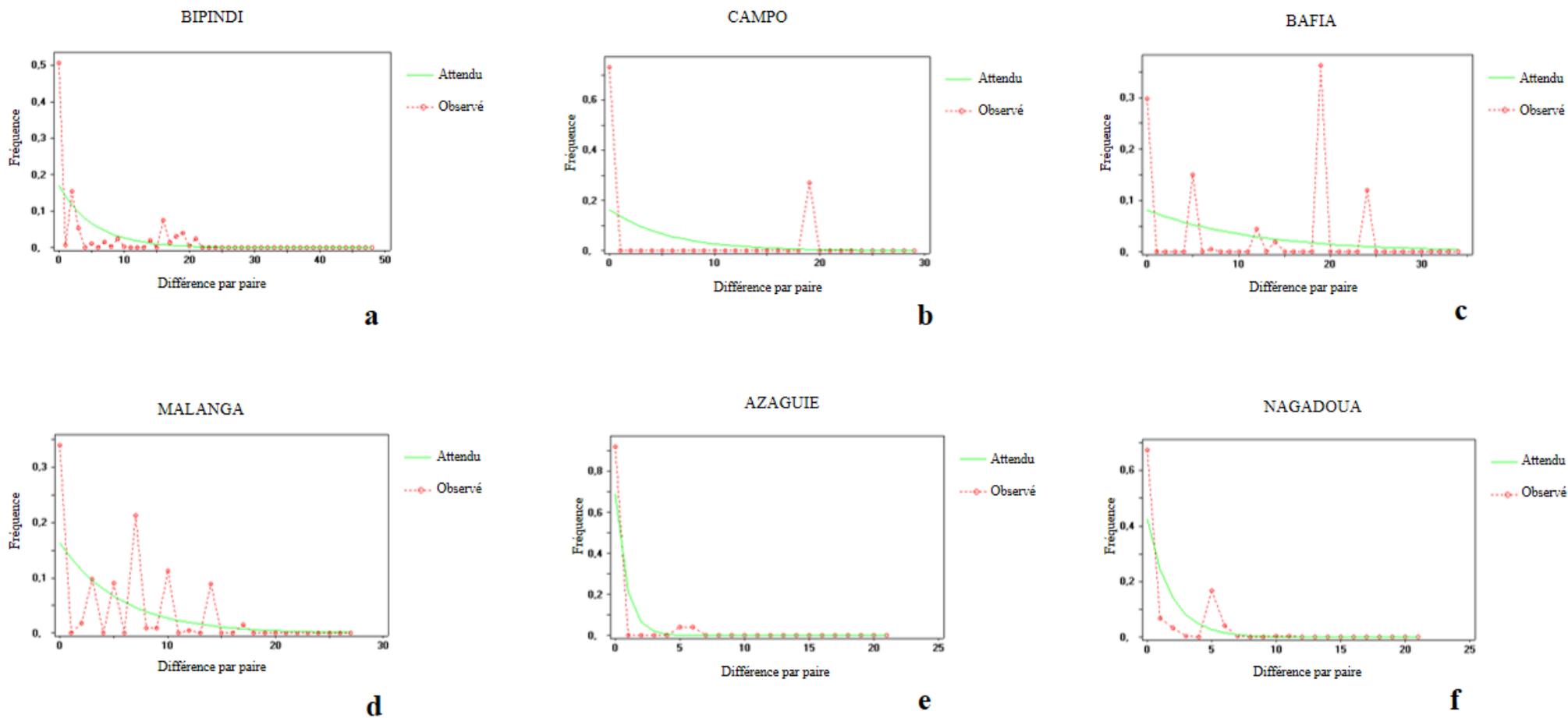


Figure 25 : Distribution des disparités dans différentes populations

a-Bipindi, **b**-Campo, **c**-Bafia, **d**-Malanga, **e**-Azaguié **f**-Nagadoua

Le nombre de différences nucléotidiques par paires d'haplotypes est représenté en abscisse et leurs fréquences en ordonnée.

➤ **Taille effective de la population**

Pour la taille effective de la population, le paramètre de mutation Theta (Θ) variait entre 1,38 à Azaguié et 8,61 à Bafia (tableau XVIII). Les populations de glossines du Cameroun étaient environ deux fois et cinq fois plus grandes que celles de la RDC et de la Côte d'Ivoire, respectivement. Les populations de tsé-tsé de Côte d'Ivoire ont montré la plus petite taille de population effective, à savoir 1,38 et 1,96 à Azaguié et Nagadoua respectivement pour les valeurs thêta.

Tableau XVIII : Paramètres démographiques dans les différentes populations

PAYS	POPULATIONS	N	SSD (P-Value)	R ₂	F _S (P-Value)	Thêta
CAMEROUN	BIPINDI	138	0,281 (P<0,01)*	0,0457 (0,057)	1,677 (0,752)	6,990
	CAMPO	26	0,103 (P=0,02)*	0,1354 (0,655)	12,113 (0,999)	8,146
	FONTEM	30	-			
	BAFIA	29	0,212 (P<0,01)*	0,2274 (1,00)	12,323 (0,998)	8,605
RDC	MALANGA	57	0,520 (P<0,01)*	0,1509 (0,926)	5,295 (0,949)	4,177
COTE D'IVOIRE	AZAGUIE	49	0,006 (P=0,100)	0,0994 (0,348)	0,143 (0,435)	1,376
	NAGADOUA	50	0,050 (P=0,070)	0,0457 (0,010)*	-0,963 (0,302)	1,959

*Valeurs statistiquement significatives, N : Nombre d'individus, SSD : somme des écarts carré, R₂ : statistique de Ramos-Onsins and Rozas' pour l'équilibre démographique (2002), F_S : test de neutralité sélective de Fu (1997).

III-1-10. Analyse phylogénétique

L'analyse phylogénétique a révélé deux groupes séparés (figure 26) avec des valeurs de « bootstrap » de 97 et 100. Le premier groupe est formé de glossines originaires de la RDC et le second de glossines originaires du Cameroun et de la Côte d'Ivoire. L'arbre phylogénétique a également montré que les populations de *G. palpalis. palpalis* du Cameroun sont génétiquement plus proches de celles de la Côte d'Ivoire que de celles de la RDC. Le groupe rassemblant les mouches tsé-tsé de la RDC était génétiquement isolé des autres populations analysées avec une valeur de « bootstrap » à 100.

III-1-11. Corrélation entre les IRT et différents facteurs du foyer de Bipindi

III-1-11-1. Analyses génétiques dans les villages du foyer de Bipindi

Une analyse génétique intra populationnelle a été réalisée sur les glossines capturées au mois de juillet, à l'aide de trois marqueurs d'ADN mt. Au total 168 glossines ont été analysées dans trois villages ou sous populations (Lambi, Memel et Ebiminbang) soit 56 individus par village. Dans chaque village, 10 pièges ont été choisis et une moyenne de cinq glossines par piège ont été analysées. Des 56 glossines analysées dans chaque village, 51, 42 et 45 à Lambi, Memel et Ebiminbang respectivement sont exploitables soit 82,14% des individus. Le marqueur COI est le plus polymorphe avec 6 profils, suivi du marqueur COII-TLII avec 4 profils, le 16S2 étant le moins polymorphe avec 3 profils. Le nombre de profils différait d'un village à un autre, le village Ebiminbang ayant le plus grand nombre de profils (tableau XIX).

Tableau XIX : Différents profils par marqueur et par sous population à Bipindi

	LAMBI	MEMEL	EBIMINBANG
COI	A,B,D	A,B,D,E	B,D,E,F,G
COII-TLII	A,B,C,D	A,B,C	A,C
16S2	A	A	A,B,C

III-1-11-1-1. Distribution des haplotypes par piège et par sous population

La figure 27 présente les haplotypes des glossines à l'intérieur des pièges (les grands cercles) dans les différents villages. Les couleurs dans les cercles correspondent aux différents haplotypes et la taille des camemberts est proportionnelle au nombre d'individus présentant les haplotypes donnés. Les trois sous populations Lambi, Memel et Ebiminbang ont eu chacune 7, 7 et 9 haplotypes respectivement. L'haplotype le plus représenté dans tous les villages est le h9 avec une fréquence moyenne de 0,704. Six haplotypes ont été exclusivement présents à Ebiminbang et un à Lambi.

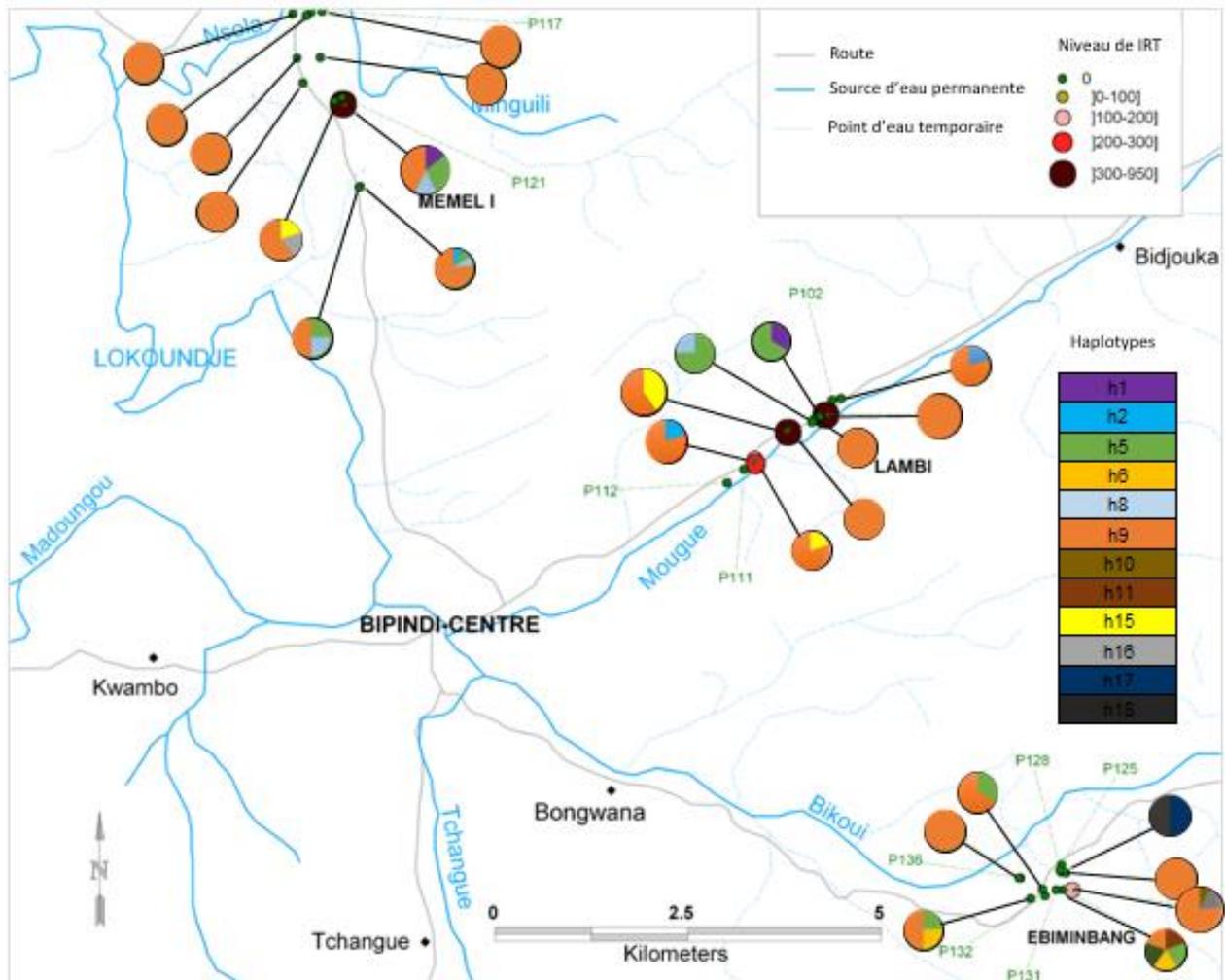


Figure 27 : Différents haplotypes au niveau des pièges dans les différents villages

III-1-11-1-2. Différenciation génétique

Les résultats (tableau XX) montrent que les sous populations ne sont pas significativement différenciées. Nous pouvons néanmoins remarquer que les individus semblent être génétiquement plus proches entre Lambi et Memel ($F_{ST} = 0,0000$, $P = 0,94595$) qu'ils ne le sont entre les autres villages.

Tableau XX : Valeurs de F_{ST} et de (P) entre deux sous populations

	LAMBI	MEMEL	EBIMINBANG
LAMBI	0,00000		
MEMEL	(0,94595) δ	0,00251	
EBIMINBANG	(0,17117) δ	(0,28829) δ	

δ la différence n'est pas significative

III-1-11-2. Test de corrélation IRT /haplotypes - piège - village

Nous avons déterminé (tableau XXI) si l'indice de risque de transmission pourrait être lié aux facteurs tels que l'haplotype, le piège (biotope dans lequel le piège est placé), le village pris individuellement ou même collectivement.

Tableau XXI : Analyse de la variance (ANOVA) IRT et différentes variables

Sources de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	Signification.
Village	0,000	0		NA
Piège	6978259,546	19	367276,818	<0,0001*
Haplotype	0,000	8	0,000	1,000
Village + piège	0,000	0		NA
Village + haplotype	0,000	0		NA
Piège + haplotype	0,000	8	0,000	1,000
Village + piège + haplotype	0,000	0		NA
Erreur	1,355E-23	85	1,594E-25	
Total	12317310,916	131		
Total corrigé	10024242,370	130		

ddl : degré de liberté ; NA : non autorisé ; *corrélacion significative

Il ressort que l'IRT ne dépendrait ni du village, ni de l'haplotype de la glossine ($P = 1$), mais serait fortement corrélié au piège ($P < 10^{-4}$).

III-2. Discussion

Le but de ce travail était de déterminer d'une part, les paramètres épidémiologiques dans le foyer de THA de Bipindi et d'autre part, la diversité génétique au sein et entre des populations de *Glossina palpalis palpalis* à l'aide de marqueurs de l'ADN mitochondrial. Cette diversité génétique a été utilisée pour estimer le niveau de flux génétique, l'histoire démographique et les relations phylogénétiques entre les individus de cette sous-espèce ; l'ensemble de ce travail concourant à mieux définir les protocoles de lutte contre la maladie du sommeil.

III-2-1. Etudes épidémiologiques à Bipindi

L'objectif principal de cette étude menée particulièrement à Bipindi était d'évaluer et de cartographier le risque de transmission de la maladie du sommeil qui prévaut dans le foyer de THA de Bipindi pendant deux périodes contrastées, afin de déterminer la corrélation entre les haplotypes des glossines et les indices de risques de la période (saison) où la probabilité de la transmission est la plus élevée, le but étant de fournir des connaissances qui aideront à élaborer une stratégie de lutte ciblée et efficiente. Dans ce cadre, les paramètres entomologiques, parasitologiques et génétiques ont été étudiés et comparés dans trois villages de cette localité.

III-2-1-1. Paramètres entomologiques

- Diversité spécifique des glossines

La présence de *G. p. palpalis*, *G. pallicera* et *G. nigrofusca* dans le foyer de la maladie du sommeil de Bipindi corrobore les observations précédentes faites dans ce même foyer par Mbida Mbida (2006) et Simo *et al.* (2008). Dans la présente étude, tout comme dans celles réalisées à Bipindi par Grébaut *et al.* (2004) et par Farikou *et al.* (2010b), l'espèce de glossine la plus répandue était *G. p. palpalis* (> 98,0%). Dans leur étude, Grébaut et collaborateurs (2004) ont utilisé les pièges « Vavoua ». Ces pièges avaient déjà montré leur efficacité sur une grande variété d'espèces de glossines (Laveissière & Grébaut, 1990). Ainsi la proportion élevée de *G. p. palpalis* obtenue dans la présente étude ne peut être une conséquence de la technique de piégeage ou du type de piège utilisé. Bien que cette espèce ait un fort pouvoir d'adaptation, cette proportion élevée observée serait le reflet de l'effet de l'action humaine sur les biotopes où les pièges ont été fixés (Laveissière *et al.*, 2000 ; Mbida Mbida, 2006).

- Densités apparentes des glossines par piège et par jour (DAP)

La DAP significativement plus élevée observée en juillet corrobore les résultats obtenus lors d'études antérieures dans le foyer de THA de Bipindi (Grébaut *et al.*, 2004) ainsi que dans celui de Campo dans la région forestière du sud du Cameroun (Farikou *et al.*, 2010b). L'abondance relative des mouches tsé-tsé a montré une forte corrélation avec des facteurs tels que le climat, la végétation ou la fréquence du contact entre les glossines et leurs hôtes vertébrés (Grébaut *et al.*, 2004). Il a également été montré que le type de sol, les activités humaines, les sites de reproduction des mouches tsé-tsé ainsi que la distribution des mammifères pourraient influencer significativement l'abondance des mouches tsé-tsé dans un biotope donné (Grébaut *et al.*, 2004 ; Massussi *et al.*, 2009). Dans notre étude, les pièges ont été placés dans la même position pendant les deux périodes de piégeage pour permettre de mesurer l'impact direct ou indirect des variations climatiques (températures et précipitations) sur l'abondance des glossines aux mêmes sites de capture. Par conséquent, les changements qui se produisent dans l'environnement ou dans le comportement de l'hôte pendant toute la période de piégeage sont influencés par les variations temporelles du climat. En effet, les conditions climatiques ayant régné en juillet (début de la petite saison sèche) et en mars (fin de la grande saison sèche) ont probablement été fortement influencées par l'effet cumulatif des conditions climatiques prévalant au cours des mois ou des saisons précédant chaque période de piégeage, tel que montré sur le diagramme ombrothermique. Par la suite, certaines sources d'eau ont eu tendance à s'assécher après les mois secs et à régénérer après les pluies. Cependant, des sources d'eau permanentes ont été maintenues tout au long de l'année, ayant favorisé le développement et le maintien d'un micro-habitat pour les mouches tsé-tsé. La baisse significative de la DAP de 3,05 en juillet à 0,91 en mars à Ebiminbang pourrait résulter de l'environnement autour de chaque piège. En effet, la plupart des cours d'eau de ce village ne sont pas permanents au cours de l'année. Par conséquent, presque tous les pièges d'Ebiminbang ont été mis en place autour de sources d'eau temporaires qui se sont asséchées en mars (figures 20a et b page 65). Au contraire, à Memel et à Lambi, la plupart des pièges ont été placés aux alentours des ruisseaux Miguili et Mougue respectivement. Ils sont des ruisseaux permanents, affluents de la rivière Lokoundje. Une observation remarquable dans cette étude est que les densités de glossines étaient particulièrement élevées là où les activités des hôtes, dans et / ou autour des sources d'eau importantes et pérennes, étaient générées. Par conséquent, les DAP étaient presque constantes ou pas significativement affectées d'une période de piégeage à l'autre. Ces résultats confirment clairement que la disponibilité de l'eau, ainsi que les activités associées des hôtes (lors des baignades, de la natation, de la lessive), peuvent avoir un impact réel sur la densité de la mouche tsé-tsé et par conséquent sur la transmission de la maladie du sommeil.

➤ Les glossines ténérales

La proportion significativement plus élevée de glossines ténérales observée en juillet par rapport à mars pourrait être due à certaines conditions environnementales (climat, végétation, ...) qui favorisent l'achèvement du cycle de développement des glossines (Laveissière *et al.*, 2000). Pendant les mois secs, la température élevée ne favorise pas le développement des pupes car le sol sec ne permet pas aux mouches tsé-tsé de mettre leurs larves dans des conditions appropriées ou dans des environnements où elles peuvent facilement se développer. Idéalement, les précipitations doivent être modérées, un excès de pluie peut drainer le sol et entraîner la destruction des pupes enfouies par les mouches tsé-tsé (Nash, 1933). Comme prévu, la petite saison des pluies qui précède l'échantillonnage en juillet a été favorable au développement des mouches tsé-tsé. De plus, la plus forte proportion de glossines ténérales enregistrée en juillet reflète l'indice de risque de transmission le plus élevé observé durant cette période de piégeage, car les mouches ténérales sont très sensibles aux infections durant leur premier repas de sang (Laveissière *et al.*, 2000).

III-2-1-2. Paramètres parasitologiques et repas de sang

➤ Trypanosomes présents chez *Glossina palpalis palpalis*

L'observation microscopique a permis de révéler un taux d'infection significativement plus élevé en mars (2,6%) par rapport à sa valeur en juillet (0,7%). La PCR a quant à elle permis d'identifier 12,0% (35/274) et 8,2% (71/808) des trypanosomes en mars et juillet respectivement. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus après examen microscopique, ceci grâce à la meilleure sensibilité de la PCR qui détecte 1 trypanosome/ml de sang (Penchenier & Laveissière, 2000). Ces taux d'infections témoignent d'une grande circulation des trypanosomes dans le foyer de trypanosomoses de Bipindi. Des taux d'infection aussi élevés ont déjà été notés chez les glossines de ce foyer de trypanosomoses (Grébaut *et al.*, 2004 ; Farikou *et al.*, 2010b) ou même chez celles d'autres foyers forestiers de trypanosomoses du Cameroun (Morlais *et al.*, 1998 ; Farikou *et al.*, 2010a). Les espèces de trypanosomes identifiées grâce à la PCR démontrent l'existence dans cette localité de Bipindi tant des parasites responsables de la Trypanosomiase Animale Africaine (*T. congolense* « type forêt », *T. congolense* « type savane », *T. vivax*), que ceux de la Trypanosomose Humaine Africaine (*T. b. gambiense*).

➤ Les repas de sang

La proportion plus élevée de mouches tsé-tsé ayant un repas de sang en mars par rapport à juillet pourrait également s'expliquer par les conditions climatiques. Bien que les mouches tsé-tsé trouvent des conditions climatiques favorables et des hôtes divers partout dans la zone forestière, la température pendant la période sèche est élevée et les hôtes vertébrés se rapprochent des sources d'eau permanentes et de l'ombre où ils peuvent trouver de l'eau ou se reposer. Dans ces biotopes, les mouches tsé-tsé peuvent facilement obtenir leurs repas de sang (Laveissière *et al.*, 2000) ; ceci est donc en accord avec la plus grande proportion de repas de sang observée en mars. Malgré l'identification des résidus sanguins comme provenant des humains et des porcs, l'origine de 58% des repas de sang n'a pas été déterminée. Ils proviendraient probablement des animaux sauvages, vu que les animaux domestiques les plus communs trouvés dans ce foyer ont été utilisés comme référence lors de l'identification (Simo *et al.*, 2012). Cette hypothèse est renforcée par des résultats antérieurs obtenus dans ce même foyer de Bipindi où des repas de sang de glossines provenant de différentes espèces d'animaux sauvages ont été rapportés (Njiokou *et al.*, 2006 ; Simo *et al.*, 2008 ; Farikou *et al.*, 2010b).

III-2-1-3. Risque de transmission de la maladie du sommeil

Le risque élevé de transmission de THA observé en juillet (figures 20a et b page 65) n'est pas en ligne avec les résultats obtenus par Grébaut et ses collègues (2004) qui ont trouvé un niveau de risque de transmission similaire pendant les saisons sèche et pluvieuse. Les indices de risque de transmission trouvés par ces auteurs étaient de 2,03 en mai (saison des pluies) et de 2,09 en février (saison sèche), malgré la différence de densité relative des mouches tsé-tsé durant les deux périodes (2,3 en mai et 1,7 en février). L'écart entre nos résultats et ceux de Grébaut *et al.* (2004) pourrait s'expliquer par la période d'échantillonnage. Grébaut *et al.* (2004) ont échantillonné les mouches tsé-tsé en mai (au milieu de la petite saison des pluies) et en février (à la fin de la grande saison sèche), alors que nos relevés ont été menés au début de la petite saison sèche et à la fin de la grande saison sèche. Une autre explication de cet écart serait la variation de la pluviométrie au cours des années telle que observée en mars (voir annexe 2). La comparaison des valeurs de l'indice de risque de transmission entre les villages montre que le village de Lambi présente le plus haut niveau de risque de transmission quelle que soit la période de piégeage. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus lors des enquêtes médicales où la plupart des patients précédemment diagnostiqués provenaient de ce village (Grébaut *et al.*, 2001). L'indice de risque de transmission élevé observé à Lambi pourrait également s'expliquer par certains facteurs environnementaux tels que les sources d'eau permanentes et la couverture végétale stable qui favorisent un taux élevé de transmission de la maladie du

sommeil. À Ebiminbang, toutefois, la plupart des rivières se sont asséchées pendant les saisons sèches. Cela peut expliquer la baisse de la DAP ainsi que la faible valeur de l'indice de risque de transmission observée dans ce village.

III-2-2. Analyses génétiques grâce aux marqueurs d'ADN mitochondriaux

III-2-2-1. Sensibilité des marqueurs étudiés

Trois loci mitochondriaux ont été amplifiés avec succès sur six analysés. L'échec de l'amplification des trois autres pourrait être causé par des mutations de nucléotides au niveau des sites d'hybridation des amorces (Wohlford *et al.*, 1999), puisque deux marqueurs ont été amplifiés sur des échantillons de RDC. Sur les 418 glossines analysées avec les marqueurs COI, COII-TLII et 16S2, 9,34% n'ont pas pu être amplifiées par la PCR. Cela était probablement due à la mauvaise qualité de l'ADN de ces échantillons, puisque les amorces amplifiaient le gène d'un large éventail d'individus.

III-2-2-2. Séquençage et fiabilité de la technique SSCP

Le séquençage a révélé que la technique SSCP donnait une bonne estimation de la variation au niveau des locus mitochondriaux, bien que la technique sous-estime la diversité des nucléotides. La résolution globale du SSCP (74,35%) était supérieure à celle (67%) trouvée par Marquez *et al.* (2004) et beaucoup plus élevée que celle obtenue en détectant les substitutions d'acides aminés dans les études sur les alloenzymes (Krafsur & Griffiths, 1997). Il a été montré que la technique d'électrophorèse enzymatique ne détecte pas plus de 25 à 30% du «vrai» niveau de substitution des acides aminés (Nei, 1987).

III-2-2-3. Marqueurs mitochondriaux et haplotypes

Un total de 34 haplotypes a été détecté chez *G. p. palpalis* dans notre étude. Les mêmes méthodes ont montré 32 haplotypes à quatre locus dans six populations de *G. pallidipes* de quatre pays (Krafsur & Wohlford, 1999), seuls neuf haplotypes ont été enregistrés dans treize populations de *G. p. gambiensis* de deux pays (Marquez *et al.*, 2004), 21 haplotypes dans trois populations de *G. fuscipes fuscipes* de deux pays (Krafsur *et al.*, 2008). Cette différence pourrait s'expliquer par les différents marqueurs utilisés dans ces études.

Le marqueur COI est apparu dans cette étude comme le marqueur le plus polymorphe avec treize variants de SSCP. Ces résultats corroborent ceux des travaux précédents (Cordon-Obras *et al.*, 2014 ; Wohlford *et al.*, 1999) rapportant le COI comme le locus mitochondrial le

plus variable par rapport à 16S2. Le polymorphisme élevé observé sur le marqueur COI est en ligne avec les observations révélant que ce marqueur est le plus important contributeur au soutien des nœuds dans la phylogénie, tandis que 16S était le gène le moins performant (Petersen *et al.*, 2007). En fait, les données sur les COI sont les plus complètes dans l'échantillonnage des taxons (Dyer *et al.*, 2008).

III-2-2-4. Indices de diversités et histoire démographique des populations

Les valeurs élevées des diversités haplotypiques et nucléotidiques enregistrées dans les populations de glossines de Bafia ($H = 0,70$; $\pi_n = 0,01$) Bipindi ($H = 0,49$; $\pi_n = 0,004$), Campo ($H = 0,27$; $\pi_n = 0,004$) et Malanga ($H = 0,66$; $\pi_n = 0,004$) indiquent des populations stables avec de grandes tailles. Cette hypothèse est étayée par les valeurs de θ , ainsi que par les valeurs de SSD, R_2 et le F_s . A Bafia par exemple, les valeurs de θ étaient de 8,605. En effet, la valeur SSD de 0,21 était significativement ($P < 10^{-4}$) différente de celle attendue en cas d'expansion démographique de la population. De plus, les valeurs non significatives de F_s ($P = 0,998$) et R_2 ($P = 1,00$) corroborent l'hypothèse.

D'autre part, les indices de diversités nulles à Fontem ($H = 0,00$; $\pi_n = 0,00$) pourraient refléter une réduction substantielle antérieure de la taille de la population. Nous n'avons pas d'estimation statistique parce que Fontem était monomorphe (tous les individus échantillonnés avaient le même haplotype). En fait, Fontem est entouré de montagnes, qui peuvent agir comme des barrières physiques, expliquant son isolement des autres populations de glossines voisines. Les populations de glossines du foyer de THA de Fontem pourraient donc provenir d'un petit nombre de glossines géographiquement isolées. Un résultat similaire a été obtenu par Mélachio et collaborateurs (données non publiées) avec des marqueurs microsatellites dans la même région.

Parmi les trois pays, les populations de glossines de Côte d'Ivoire ont présenté les indices de diversité les plus faibles. Les faibles valeurs de H et π_n observés pourraient indiquer un goulot d'étranglement antérieur, comme le suggèrent Salducci *et al.* (2004) dans ces populations. Cette hypothèse a été corroborée par les faibles valeurs de θ . En outre, le SSD non significatif et le D de Tajima négatif et significatif (données non présentées) suggèrent une expansion démographique des échantillons de Nagadoua et Azaguié. Mais l'hypothèse n'a pas été corroborée par les deux tests les plus puissants (R_2 et F_s). En effet, R_2 et F_s n'étaient clairement pas significatifs à Azaguié, ce qui conduit à conclure que l'hypothèse d'un goulot d'étranglement n'est pas confirmée. Cependant à Nagadoua, R_2 était significatif mais la statistique F_s bien qu'ayant une valeur négative, n'était pas significative et ne pouvait donc pas

apporter d'informations cohérentes pour soutenir l'hypothèse d'un goulot d'étranglement antérieur ou d'une expansion démographique soudaine (Ramos-Onsins & Rozas, 2002). Ces résultats contrastés montrent que davantage d'investigations sont nécessaires pour mieux comprendre l'histoire démographique des populations de glossines en Côte d'Ivoire.

III-2-2-5. Structure génétique

La structure génétique, étudiée par la répartition des variations haplotypiques au sein des populations ($F_{ST} = 0,88$; $P < 0,0001$), entre les populations au sein des pays ($F_{SC} = 0,51$; $P < 0,0001$) et entre les pays ($F_{CT} = 0,76$; $P \leq 0,05$) montre que les populations de *G. p. palpalis* sont structurées à ces trois niveaux différents. Le test de Mantel a montré que la distance géographique montrait un effet significatif sur la différenciation génétique, ce qui pourrait expliquer une partie de la structure de la population observée dans notre travail. Bien que l'ADN mitochondrial se soit avéré moins puissant pour tester l'isolement par la distance (Teske *et al.*, 2018), les résultats de cette étude sont néanmoins conformes à ceux de précédentes études utilisant des marqueurs microsatellites. Ces études antérieures ont révélé un fort isolement par la distance dans les populations de glossines du Cameroun et de la RDC (Mélachio *et al.*, 2011) et du Cameroun, de la RDC et de la Côte d'Ivoire (De Meeûs *et al.*, 2015). Cela suggère que les populations échantillonnées ici peuvent être composées de sous populations d'accouplements aléatoires occupant des zones assez étendues, avec un isolement par la distance qui rend très improbable la probabilité qu'un allèle passe d'un foyer à l'autre, par exemple de Bipindi à Fontem. Cela explique également pourquoi la F_{ST} entre paires de populations était significativement élevée entre presque toutes les paires de populations comparées, montrant le niveau de différences moléculaires qui existent entre elles. Des analyses supplémentaires de génétique du paysage sont nécessaires pour mieux comprendre la structure génétique de ces populations, car d'autres paramètres comme la résistance du paysage et / ou les barrières à la dispersion peuvent avoir un effet considérable sur la structuration des populations (Cushman *et al.*, 2006 ; Cushman & Landguth, 2010 ; Van Strien *et al.*, 2015).

Concernant l'analyse des populations de glossines issues des foyers d'un même pays, l'absence de différences significatives des valeurs de F_{ST} entre Bipindi et Campo d'une part et Nagadoua et Azaguié d'autre part suggère un niveau important de flux de gènes entre ces couples de populations. Cela équivaut à un échange théorique de 29,69 et 43,42 femelles reproductrices par génération respectivement entre Bipindi et Campo, et entre Azaguié et

Nagadoua. Effectuer une analyse génétique avec une combinaison d'outils comme l'ADN nucléaire et mitochondrial par exemple, fournira des résultats très précis.

III-2-2-6. Relations phylogénétiques

L'arbre phylogénétique a clairement séparé nos échantillons en deux groupes, isolant les glossines de la RDC des autres populations échantillonnées. Malgré la distance géographique entre le Cameroun et la Côte d'Ivoire, les glossines échantillonnées dans ces deux pays semblent être phylogénétiquement plus proches, par rapport aux glossines collectées en RDC. Ces résultats sont en accord avec les observations de Cordon-Obras *et al.* (2014) classant les populations de glossines du Cameroun et celles de l'île de Biogo (Guinée Equatoriale) dans le clade d' «Afrique de l'Ouest», alors que les populations de glossines de la RDC se trouvaient dans le clade «Centrafricain». Comme Dyer *et al.* (2009) utilisant l'ADNmt (COI), et comme De Meeûs *et al.* (2015) utilisant des marqueurs microsatellites, nos résultats confirment que *Glossina palpalis palpalis* est un taxon fortement hétérogène.

L'analyse phylogénétique a révélé que les glossines collectées en RDC sont génétiquement différenciées des autres échantillons avec une valeur bootstrap de 100. Cette observation renforce l'hypothèse sur les dèmes cryptiques au sein de *G. p. palpalis*. Ceci est en accord avec les expériences d'accouplement précédentes dans lesquelles *G. p. palpalis* provenant de colonies originaires du Nigeria et du Bas-Zaire (RDC) ont produit des descendants mâles stériles (Gooding *et al.*, 2004).

III-2-3. Corrélation entre l'IRT / haplotypes-piège-village

Les analyses génétiques réalisées sur les glossines capturées à Bipindi en juillet dans les trois villages (Lambi, Memel et Ebiminbang) ont montré que l'haplotype h9 est le plus représenté dans tous les villages et dans presque tous les pièges, ce qui pourrait laisser penser qu'il serait l'haplotype ancestral. Des tests supplémentaires nous permettront d'affirmer ou de rejeter cette hypothèse.

Nos résultats ont montré que l'indice de risque de transmission serait fortement corrélé au piège ($P < 10^{-4}$). En effet les pièges placés dans les biotopes régulièrement fréquentés par les hôtes vertébrés que ce soit pour des activités ménagères (lessives, vaisselles, baignade...), champêtres (cultures), ou des points d'eau et de repos pour les animaux sont des sites les plus à risque.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude avait pour principaux objectifs la détermination des niveaux de risque de transmission du parasite dans le foyer de la maladie du sommeil de Bipindi, l'analyse de la structure génétique de *Glossina palpalis palpalis* de sept foyers de trypanosomose humaine du Cameroun, de la Côte d'Ivoire et de la RDC et leurs flux migratoires ; enfin, la détermination de l'histoire démographique de ces populations ainsi que les relations phylogénétiques entre les glossines des différentes populations.

Les résultats de cette étude ont montré l'impact des variations climatiques spatiales et temporelles sur les paramètres entomologiques et parasitologiques caractérisant la transmission de la maladie du sommeil dans le foyer de Bipindi. Ils ont également montré que la densité des glossines ainsi que le risque de transmission de la maladie du sommeil peuvent être influencés par les conditions prévalant avant la période de piégeage. La disponibilité de l'eau (permanente ou temporaire) est une composante importante de l'environnement qui a une grande influence sur la couverture végétale, sur la densité des glossines et donc sur la transmission de la maladie du sommeil. S'il fallait choisir un lieu à Bipindi où prioriser la lutte contre le vecteur, nous proposerions le village Lambi et ceci pendant le mois de mars, du fait que pendant cette période la densité glossinienne est déjà affaibli.

Les marqueurs mitochondriaux ont permis de révéler une grande distance génétique entre les populations de *Glossina palpalis palpalis* d'Afrique Occidentale et Centrale, qui était significativement associée à la distance géographique entre ces populations de glossines. Les résultats de cette étude montrent un flux de gènes important entre les populations de glossines de Bipindi et Campo au Cameroun et entre celles d'Azaguié et Nagadoua en Côte d'Ivoire. Les indices de diversité nuls obtenus dans le foyer de Fontem suggèrent que les populations de glossines de ce foyer pourraient provenir d'un petit nombre de glossines géographiquement isolées. Les autres populations d'Afrique Centrale sont composées de grandes populations en équilibre démographique. Les analyses phylogénétiques ont confirmé que *Glossina palpalis palpalis* est un taxon fortement hétérogène, avec une singularité pour les glossines originaire de la RDC.

L'étude des corrélations entre l'indice de risque de transmission de la maladie et divers facteurs qualitatifs a montré une affinité avec les pièges, ceux-ci étant liés aux paramètres environnementaux où ils ont été posés.

Pour planifier la lutte anti-vectorielle dans différents foyers d'échantillonnage, nos résultats suggèrent la stratégie de «suppression», en raison de l'existence d'un flux génétique important entre certaines populations.

Les difficultés auxquelles nous avons fait face tout au long de ce travail nous amènent à ouvrir quelques points de réflexions en perspective. Il s'agit principalement de :

- ❖ augmenter le nombre de marqueurs d'ADN mitochondriaux au moins à six ;
- ❖ faire des études du risque de transmission pendant les différentes saisons (grandes saisons sèches et pluvieuses) ;
- ❖ étudier l'impact de la lutte anti-vectorielle menée durant une saison sur les autres saisons ;
- ❖ faire une analyse plus approfondie sur l'histoire démographique des populations de glossines de la Côte d'Ivoire.

Références

A

- Aerts D., Truc P., Penchenier L., Claes Y., Le Ray D. (1992). A kit for in vitro isolation of trypanosome in the field : first trial with sleeping sickness patients in Congo Republic. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86, 394-395.
- Avise J. C. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, London. Google Scholar
- Avise J. C. (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Avise J. C., Arnold J., Ball R. M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J. E., Reeb C. A., Saunders N. C. (1987) Intraspecific phylogeography-the mitochondrial-DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489–522
- Asonganyi T. & Ade S. S. (1992). Review of sleeping sickness in Cameroon. *Journal Camerounais de Médecine*, 3, 30-37.
- Asonganyi T. & Ade S. S. (1994). Sleeping sickness in Cameroon. *Journal Camerounais de Médecine*, 3, 30-37.

B

- Bailey A. L. (1995) Single-Stranded Conformational Polymorphisms, PCR strategies (ed by M. A. Innis, D. H. Gelfand and J.J. Sninsky), pp 121-129. *Academic press, Inc.*, New York.
- Bailey J. W. & Smith D. H. (1992). The use of acridine orange QBC® technique in the diagnosis of african trypanosomiasis. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86, 630.
- Baker M. D. & Krafur, E. S. (2001). Identification and properties of microsatellite markers in tsetse flies *Glossina morsitans sensu lato* (Diptera: Glossinidae). *Molecular Ecology Notes*, 1(4), 234-236. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8278>
- Bazin E., Glémin S., Galtier N. (2006). Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *Sciences. Reports* Vol 312.
- Beadell J. S., Hyseni C., Abila P. P., Azabo R., Enyaru J. C. K., Ouma J. O., Mohammed Y. O., Okedi L. M., Aksoy S., Caccone A. (2010) Phylogeography and Population Structure of *Glossina fuscipes fuscipes* in Uganda: Implications for Control of Tsetse. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 4(3): e636.
- Black W. C. & DuTeau N. M. (1996) RAPD-PCR and SSCP analysis for insect population genetic studies. *Molecular biology of insect disease vectors: a methods manual*. (ed. by In: J.M. Crampton, C. B. Beard and C. Louis), pp. 361-383. Chapman & Hall, London.
- Boakye D. A., Tang J., Truc P., Merriweather A., Unnasch T. R. (1999) Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Medical and Veterinary Entomology*, 13, 282-287.
- Bouyer J. (2006). Ecologie des glossines du Mouhoun au Burkina Faso: intérêt pour l'épidémiologie et le contrôle des trypanosomoses africaines. *Parasitologie*. Université

Montpellier II, Montpellier, France, p. 206.

Bouyer J., Ravel S., Guerrini L., Dujardin J. P., Sidibé I., Vreysen M. J. B., De Meeûs, T. (2010). Population structure of *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae) between river basins in Burkina Faso: Consequences for area-wide integrated pest management. *Infection, Genetics and Evolution*, 10(2), 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.12.009>

Brunhes J., Cuisance D., Geoffroy B., Hervy J-P. (1998). Les glossines ou mouches tsé-tsé : logiciel d'identification et d'enseignement = Glossina : the tsetse fly : an identification and training software. Paris (FRA) ; Montpellier : ORSTOM ; CIRAD, 1 CD (Didactiques). ISBN 2-7099-1379-8

C

Cattand P. (2001). L'épidémiologie de la trypanosomiase humaine africaine : une histoire multifactorielle complexe. *Médecine Tropicale*, 61, 313-322.

Castro J. A., Picornell A, Ramon M. (1998) Mitochondrial DNA: a tool for populational genetics studies. *International microbiology*,1:327–332

Céné B., Yoni W., Bouyer J., Desquesnes M., Kaboré I. (2005). L'imprégnation d'écrans à l'insecticide. Santé animale en Afrique de l'Ouest, Recommandations Techniques, CIRDES/CIRAD 22.

Challier A. & Laveissiere C. (1973). Un nouveau piège pour la capture des glossines (*Glossina*: Diptera, Muscidae), description et essais sur le terrain. Cah. ORSTOM. *Série. Entomologie médicale et Parasitologie*, 11,251-262.

Challier A. (1982) - The ecology of tsetse, *Glossina* spp. (Diptera, Glossinidae) : a review (1970-1981). *Insect Science Applicatio*, 3, 97-143.

Cockerham C. C. (1969) Variance of gene frequencies. *Evolution*, 23, 72-83.

Cockerham C. C. (1973) Analysis of gene frequencies. *Genetics*, 74, 679-700.

Cordon-Obras C., Cano J., Knapp J., Nebreda P., Ndong-Mabale N., Ncogo-Ada P. R., Bart J. M. (2014). *Glossina palpalis palpalis* populations from Equatorial Guinea belong to distinct allopatric clades. *Parasites and Vectors*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-31>

Cuisance D. (1989). Le piégeage des tsé-tsé. Etudes et synthèses de l'I.E.M.V.T./CIRAD (*Maisons Alfort*), 32, 1-172.

Cushman S. A., McKelvey K. S., Hayden J., Schwartz M. K. (2006) Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *The American Naturalist*, 168, 486-499.

Cushman S.A. & Landguth E. L. (2010) Spurious correlations and inference in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19, 3592-3602

D

Dauchy F-A., Bonhivers M., Landrein N., Dacheux D., Courtois P., Lauruol F. (2016) *Trypanosoma brucei* CYP51: Essentiality and Targeting Therapy in an Experimental

Model. . *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(11), e0005125.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005125>

- De La Rocque S., Augusseau X., Guillobez S., Michel V., De Wispelaere G., Bauer B., Cuisance D. (2001). The changing distribution of two riverine tsetse flies over 15 years in an increasingly cultivated area of Burkina Faso. *Bulletin of Entomological Research*, 91, 157-166.
- De Meeûs T. (2012). Initiation à la génétique des populations naturelles. Edition IRD.pp325
- De Meeûs T., Bouyer J., Ravel S., Solano P. (2015). Ecotype Evolution in *Glossina palpalis* Subspecies, Major Vectors of Sleeping Sickness. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(3), 1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003497>
- De Meeûs T., Ravel S., Rayaisse J. B., Courtin F., Solano P. (2012). Understanding local population genetics of tsetse: The case of an isolated population of *Glossina palpalis gambiensis* in Burkina Faso. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(6), 1229-1234. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.005>
- Dje N. N., Miezán T. W., N'guessan P., Brika P., Doua F., Boa F. (2002). Distribution géographique des trypanosomés pris. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 95(5), 359-361.
- Dukes P., Rickman L. R., Killick-Kendrick R., Kakoma I., Wurapa F. K., De Raadt P., Morrow R. (1984). A field comparison of seven diagnostic techniques for human trypanosomiasis in the Luangwa Valley, Zambia. *Tropenmedizin und Parasitologie* (Stuttgart), 35, 141-147.
- Dyer N. A., Furtado A., Cano J., Ferreira F., Afonso M. O., Ndong-Mabale N., Ndong-Asumu P., Centeno-Lima S., Benito A., Weetman D., Donnelly M. J., Pinto J. (2009). Evidence for a discrete evolutionary lineage within Equatorial Guinea suggests that the tsetse fly *Glossina palpalis palpalis* exists as a species complex. *Molecular Ecology*, 18, 3268-3282.
- Dyer N. A., Lawton S. P., Ravel S., Choi K. S., Lehane M. J., Robinson A. S., Donnelly M. J. (2008). Molecular phylogenetics of tsetse flies (Diptera: Glossinidae) based on mitochondrial (COI, 16S, ND2) and nuclear ribosomal DNA sequences, with an emphasis on the palpalis group. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(1), 227-239. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.07.011>

E

- Elsen P., Amoudi M. A., Leclercq M. (1990) A propos de la découverte, en Arabie Saoudite, de deux espèces de mouches tsé-tsé vectrices de trypanosomiasis humaines et animales [Discovery in Saudi Arabia of two species of tsetse fly that are vectors of human and animal trypanosomiasis]. *Revue Médicale de Liège*, 46, 225-231.
- Esterhuizen J., Rayaisse J. B., Tirados I., Mpiana S., Solano P., Vale G. A., Lehane M. J., Torr S. J. (2011). Improving the cost-effectiveness of visual devices for the control of riverine tsetse flies, the major vectors of human African trypanosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(8), e1257.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47-50.
- Excoffier L., Smouse P., Quattro J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction

data. *Genetics*, 131:479-491.

Eyckmans L. (1989). La trypanosomiase humaine africaine. *Maladies Tropicales transmissibles*, 57-60.

F

Farikou O., Njiokou F., Mbida-Mbida J. A., Njitchouang G. R., Nana-Djeunga H., Asonganyi T., Simarro P., Cuny G., Geiger A. (2010)a. Tripartite interactions between tsetse flies, *Sodalis glossinidius* and trypanosomes-An epidemiological approach in two historical human African trypanosomiasis foci in Cameroon. *Infection Genetics and Evolution*, 10, 115-121.

Farikou O., Njiokou F., Simo G., Asonganyi T., Cuny G., Geiger A. (2010)b. Tsetse fly blood meal modification and trypanosome identification in two sleeping sickness foci in the forest of southern Cameroon. *Acta Tropica*, 116, 81-88.

Fu Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147, 915-925.

G

Galtier N., Nabholz B., Gle Min S., Hurst G. D. D. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*, 18, 4541-4550

Geiger A., Fardeau M.-L., Njiokou F., Ollivier B. (2013). *Glossina* spp. gut bacterial flora and their putative role in fly-hosted trypanosome development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3, 34.

Gerber, A.S., Loggins, R., Kumar, S., Dowling, T.E. (2001). Does nonneutral evolution shape observed patterns of dna variation in animal mitochondrial genomes? *Annual. Review of Genetics*. 35, 539-566.

Gilles N. & Ricossé J.H., (1982). Cahiers d'études africaines. *Persée*, Volume 22, 85 :79-100.

Godfrey D. G. & Kilgour V. (1976). Enzyme electrophoresis in characterizing the causative organisms of Gambian trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70, 219-224.

Gooding R. H. (1997). Genetic analysis of hybrid sterility in crosses of the tsetse flies *Glossina palpalis palpalis* and *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae). *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, 75, 1109-1117.

Gooding, R.H. & Krafur, E.S. (2005). Tsetse genetics: contributions to biology, systematics, and control of tsetse flies. *Annual Review of Entomology*, 50, 101-123.

Gooding R. H., Solano P., Ravel S. (2004) X-chromosome mapping experiments suggest occurrence of cryptic species in the tsetse fly *Glossina palpalis palpalis*. *Canadian Journal of Zoology- Revue Canadienne De Zoologie*, 82, 1902-1909.

Gouteux J. P. & Dagnogo M. (1985). Homogénéité morphologique des genitalia mâles de *Glossina palpalis palpalis* (Diptera: Muscidae) en Côte d'Ivoire. Cahier O.R.S.T.O.M, série *Entomologie médicale et Parasitologie*, 23(1), 55-59.

Gouteux J. P. & Lancien J. (1986) The pyramidal trap for sampling and controlling tsetse-flies (Diptera-Glossinidae) – comparative trials and description of new collecting techniques. *Tropical Medicine and Parasitology*, 37, 61-66.

Grébaut P., Bodo J. M., Assona A., Foumane N. V., Njiokou F., Ollivier G., Laveissiere C. (2001). Recherche des facteurs de risque de la trypanosomose humaine africaine dans le foyer de bipindi au cameroun. *Médecine Tropicale*, 61, 377-383.

Grébaut P., Mbida-Mbida J. A., Kondjo A. C., Njiokou F., Penchenier L., Laveissière C: (2004). Spatial and temporal patterns of Human African Trypanosomosis (HAT) Transmission risk in the Bipindi focus, in the forest zone of southern Cameroon. *Vector Borne Zoonotic Disease*, 4, 230-238.

H

Harpending, R. C. (1994). Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*. 66: 591-600.

Harry M. 2001. - Génétique Moléculaire et Evolutive, Collection Science Fondamentale, Edition Maloine, Paris, 326p.

Hendrichs J., Vreysen M. J. B., Enkerlin W. R., Cayol J. P. (2005). Strategic options in using sterile insects for area-wide integrated pest management In Dyck V. A., editor; , Hendrichs J., editor; & Robinson A. S., editor. (Eds.), *Sterile insect technique: Principles and practice in area-wide integrated pest management* (pp. 563-600). Dordrecht, the Netherland: Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-4051-2_22

Herder S., Simo G., Nkinin S., Njiokou F. (2002). Identification of trypanosomes in wild animals from southern Cameroon using the polymerase chain reaction (PCR). *Parasite* 9, 345-349.

Hewitt G. M. (2004). The structure of biodiversity-insights from molecular phylogeography. *Frontiers in Zoology*. DOI: 10;1186/1742-9994-1-4

Hoare C. A. (1972). The trypanosomes of mammals. A Zoological Monograph. In: Mulligan, H. W. (1970). *The African trypanosomiasis, Editions Allen and Unwin*, London, 159p.

Hocking K. S., Lamerton J. F., Lewis E. A. (1963). - Tsetse control and eradication. *Bulletin of the World Health Organization*, 28, p. 811-823.

J

Jamonneau V., Garcia A., Ravel S., Cuny G., Oury B., Solano P., Sanon R. (2002). Genetic characterization of *Trypanosoma brucei gambiense* and clinical evolution of human African trypanosomiasis in Côte d'Ivoire, *Tropical Medicine and International Health*, 7, 610-621.

Jordan, A.M. (1986). Trypanosomiasis control and African rural development. *Longman ed.*, London, UK, 357 p.

K

Kabiri M., Franco J. R., Simarro P. P., Ruiz J. A., Sarsa M., Steverding D. (1999). Detection of *Trypanosoma brucei gambiense* in sleeping sickness suspects by PCR amplification of expression-site-associated genes 6 and 7. *Tropical Medicine and International Health*, 4(10), 658-61.

Kato A. B., Hyseni C., Okedi L. M. (2015). Mitochondrial DNA sequence divergence and diversity of *Glossina fuscipes fuscipes* in the Lake Victoria basin of Uganda: implications for control. *Parasites and Vectors* 8, 385.

- Kijas J. M. H., Fowler J. D. S., Garbett C. A., Thomas M. R. (1994). Enrichment of microsatellites from the citrus genome using biotinylated oligonucleotide sequences bound to streptavidin-coated magnetic particles. *Biotechniques*, 16, 657-662.
- Krafsur E. S., & Griffiths N. (1997). Genetic Variation at Structural Loci in the *Glossina morsitans* Species Group. *Biochemical Genetics*, 35, 1-11.
- Krafsur E. S., & Wohlford D. L. (1999). Breeding structure of *Glossina pallidipes* populations evaluated by mitochondrial variation. *The Journal of Heredity*, 90(6), 635-642. <https://doi.org/10.1093/jhered/90.6.635>
- Krafsur E. S., Endsley M. A., Wohlford D. L., Griffith N. T., Allsopp R. (2001). Genetic differentiation of *Glossina morsitans centralis* populations. *Insect Molecular Biology*, 10(4), 387-395. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1075.2001.00277.x>
- Krafsur E. S., Madsen M., Wohlford D. L., Mihok S., Griffiths N. T. (2000). Population genetics of *Glossina morsitans submorsitans* (Diptera: Glossinidae). *Bulletin Entomological Research*, 90(4), 329-335. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Krafsur E. S., Marquez J. G., Ouma J. O. (2008). Structure of some East African *Glossina fuscipes fuscipes* populations. *Medical and Veterinary Entomology*, 22(3), 222-227.
- Krafsur E.S. (2002) Population structure of the tsetse fly *Glossina pallidipes* estimated by allozyme, microsatellite and mitochondrial gene diversities. *Insect Molecular Biology* 11(1), 37-45.
- Krou A., & Kouame D. (2008). La Teledetection et les SIG comme moyen de hierarchisation des localites dans une region endemique de bilharziose : cas de la region de l 'Agneby (Sud-Est de la Cote d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, 22(1), 66-83.
- L**
- Lancien J. (1981). Description du piège monoconique utilisé pour l'élimination des glossines en République populaire du Congo [Description of the monoconical trap used for the elimination of tsetse in the People's Republic of Congo]. Cahiers ORSTOM: Série *Entomologie Médicale et Parasitologie*, 19:235-238.
- Lanham S. M. & Godfrey D. G. (1970). Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE cellulose. *Experimental parasitology*, 28, 521-534.
- Laveissière C. & Couret D. (1980). Lutte contre les glossines riveraines à l'aide de pièges biconiques imprégnés d'insecticide, en zone de savane humide. 1- description du lieu, du matériel et de la méthode. Cahiers O.R.S.T.O.M., série *Entomologie médicale et Parasitologie* XVIII(3): 201-207.
- Laveissière C. & Grébaud P. (1990) Recherches sur les pièges à glossines. Mise au point d'un modèle économique: le piège «Vavoua». *Tropical Medicine and Parasitology*, 41, 185-192.
- Laveissiere C., Grebaut P., Herder S., Penchenier L. (2000). Les Glossines vectrices de la trypanosomiase humaine africaine. Edition OCEAC, pp 246.
- Laveissière C., Sane B., Diallo P. B., Truc P., Meda A. H. (1997). Le risque épidémiologique dans le foyer de maladie du sommeil en Côte d'Ivoire. *Tropical Medicine and International Health*, 2, 729-732.
- Laveissière C., Sané B., Garcia A. (2003). Lutte contre la Maladie du Sommeil et Soins de

Santé Primaires. Didactiques. IRD éd., 243p.

- Laveissière C., Sane B., Meda A. H. (1994). Measurement of risk in endemic areas of human African trypanosomiasis in Côte d'Ivoire. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88, 645-648.
- Librado P. & Rozas J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451-1452.
- Lindner A. K. & Priotto G. (2010). The unknown risk of vertical transmission in sleeping sickness—a literature review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(12), e783.
- Long J. C. (1986) The allelic correlation structure of Gainj and Kalam speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright's F-statistics. *Genetics*, 112, 629-647.
- Lucas P. L., Fanchey G. F., Mouton C. M., Jannin J. J. (2001). Surveillance de la trypanosomiase humaine en Afrique centrale en 2001 et cartographie : bilan et perspectives. *Médecine Tropicale*, 361-364.
- Lumsden W. H. R., Kimber C. D., Evans D., Doig S. (1979). *Trypanosoma brucei* : a miniature Anion-Exchange Centrifugation Technique for the detection of low parasitemia : adaptation for field use. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(3), 312-7.
- Luna C., Bonizzoni M., Cheng Q., Robinson A. S., Aksoy S., Zheng L. (2001). Microsatellite Polymorphism in Tsetse Flies (Diptera: Glossinidae). *Journal of Medical Entomology*, 38(3), 376-381. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.3.376>

M

- MacLeod A., Tweedie A., Welburn S. C., Mauldin I., Turner C. M. R., Tait A. (2000). Minisatellite marker analysis of *Trypanosoma brucei*: Reconciliation of clonal, panmictic, and epidemic population genetic structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 97: 13442-13447.
- Machault V., Pages F., Rogier C. (2009). Article original Apport de la télédétection à la lutte contre le paludisme. *Médecine tropicale*, 69, 151-159.
- Magnus E., Vervoort T., van Meirvenne N. (1978). A card-agglutination test with stained trypanosomes (CATT) for the serological diagnosis of *T. b. gambiense* trypanosomiasis. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 58, 169-176.
- Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. (1982). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Publications, New York.
- Mantel N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.
- Marquez J. G., Vreysen M. J. B., Robinson A. S., Bado S., Krafur E. S. (2004). Mitochondrial diversity analysis of *Glossina palpalis gambiensis* from Mali and Senegal. *Medical and Veterinary Entomology*, 18(3), 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.12.017>. Two-stage
- Martin G., Leboeuf, Roubaud. (1909). Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français, 1906-1908. *Masson Compagnie*, Paris.

- Masiga D. K., Smyth A. J., Ayes P., Bromidge T. J., Gibson W. C. (1992). Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *International journal for parasitology*, 22, 909-918.
- Massussi J. A, Djieto-Lordon C., Njiokou F., Laveissière C., Douwe Van Der Ploeg J. (2009) Influence of habitat and seasonal variation on wild mammal diversity and distribution with special reference to the *Trypanosoma brucei gambiense* host-reservoir in Bipindi (Cameroon). *Acta Tropica*, 112, 308-315.
- Mbida Mbida J. A. (2006). Glossines et transmission de la trypanosomiase humaine africaine en zone forestière du sud Cameroun. Thèse de Doctorat 3ème Cycle, Université de Yaoundé I, pp 166.
- McCoy K. D. (2008). The population genetic structure of vectors and our understanding of disease epidemiology. *Parasite*, 15, 444-448.
- Mélachio T. T. T., Njiokou F., Ravel S., Simo G., Solano P., De Meeus T. (2015). Effect of sampling methods , effective population size and migration rate estimation in *Glossina palpalis palpalis* from Cameroun. *Infection, Genetics and Evolution*. 33, 150-157. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.04.023>
- Mélachio T. T. T., Simo G., Ravel S., De Meeûs T., Causse S., Solano P., Njiokou, F. (2011). Population genetics of *Glossina palpalis palpalis* from central African sleeping sickness foci. *Parasites and Vectors*, 4(1), 140. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-140>
- Mondet B. & Mbakop S. J. (1986). Rapport de mission sur la lutte contre la Trypanosomiase Humaine Africaine et ses vecteurs dans le foyer de Bafia (Département du Mbam). *Document d'Entomologie Médicale*, 1-17.
- Moritz C., Dowling E., Brown W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 18, 269-292.
- Morlais I., Grebaut P., Bodo J. M., Djoha S., Cuny G., Herder S. (1998). Detection and identification of trypanosomes by polymerase chain reaction in wild tsetse flies in Cameroon. *Acta Tropica*, 70, 109-117.
- Moser D. R., Cook G. A., Ochs D. E., Bailey C. P., McKane M. R., Donelson J. E. (1989). Detection of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* subspecies by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *Parasitology*, 99, 57-66.
- Mulligan H.W. (1970). The African trypanosomes. *G. Allen & Unwin LTD*, London.
- N**
- Nakamura Y., Yamagishi J., Hayashida K., Osada N., Chatanga E. (2019) Genetic diversity and population structure of *Glossina morsitans morsitans* in the active foci of human African trypanosomiasis in Zambia and Malawi. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13(7): e0007568.
- Nash TAM. (1933). A Statistical analysis of the climatic factors influencing the density of tsetse flies, *Glossina morsitans* Westw. *Journal of Animal Ecology*, 2, 197-203.
- Nei M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY, USA.
- Njiokou F., Laveissiere C., Simo G., Nkinin S., Grebaut P., Cuny G., Herder S. (2006). Wild

fauna as a probable animal reservoir for *Trypanosoma brucei gambiense* in Cameroon. *Infection Genetics and Evolution*, 6 (2), 147-153.

Njiokou F., Simo G., Mbida Mbida J. A., Truc P., Cuny G., Herder S. A. (2004). Study of host preference in tsetse flies using a modified heteroduplex PCR- based method. *Acta Tropica*, 91, 117-120.

Nkinin S. W., Njiokou F., Penchenier L., Grébaud P., Simo G., Herder S. (2002). Characterization of *Trypanosoma brucei* s.l. subspecies by isoenzymes in domestic pigs from Fontem sleeping sickness focus of Cameroon. *Acta Tropica*, 81, 225- 232.

Noireau F., Gouteux J. P., Toudic A., Samba F., Frézil J. L. (1986). Importance épidémiologique du réservoir animal à *Trypanosoma brucei gambiense* au Congo. 1- Prévalence des trypanosomoses animales dans les foyers de la maladie du sommeil. *Tropical Medicine and Parasitology*, 37, 393-398.

O

Olivry J.C. (1986) Fleuves et rivières du Cameroun. MESRES-ORSTOM Coll. "Monographies Hydrologiques ORSTOM": N 9.

OMS. (1986). La trypanosomiase Africaine :épidémiologie et lutte. *Série Des Rapports Techniques de L'oms*, n° 739. 144pp.

OMS. (1998). La trypanosomiase africaine : lutte et surveillance. Rapport d'un comité d'experts de l'OMS. *Rapports techniques* 881.

OMS. (2013). Trypanosomiase humaine africaine : lutte et surveillance. *Série Des Rapports Techniques de L'oms*, n° 984.

OMS. (2017) Centre des médias. Trypanosomiase humaine africaine (maladie du sommeil). Aide-mémoire ; n° 259. janvier 2017.

Orita M., Iwahana H., Kanazawa H., Hayashi K., Sekiya T. (1989). Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(8), 2766–2770. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.8.2766>

Orr H. A. (1997). Haldane's rule. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28, 195- 218

Ortí G., Hare M. P., Avise J. C. (1997). Detection and isolation of nuclear haplotypes by PCR-SSCP. *Molecular Ecology*, 6, 575-580.

Ostrander E. A., Jong P. M., Rine J., Duyk G. (1992). Construction of small-insert genomic DNA libraries highly enriched for microsatellite repeat sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 89, 3419-3423.

Ouma J.O., Beadell J., Hyseni C., Okedi L., Krafur E., Aksoy S., Caccone A. (2011). Genetic diversity and population structure of *Glossina pallidipes* in Uganda and western Kenya. *Parasites and vectors*, 4, 122.

Ouma J. O., Marquez J. G., Krafur E. S. (2007). Patterns of genetic diversity and differentiation in the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans* Westwood populations in East and southern Africa. *Genetica*, 130, 139-151. <https://doi.org/10.1007/s10709-006-9001-0>

Ouma J. O., Marquez J.G., Krafur E. S. (2005) Macrogeographic structure of the tsetse fly,

Glossina pallidipes (Diptera: Glossinidae) . *Bulletin of Entomological Research*, 95, 437-447.

P

- Penchenier L. & Laveissiere C. (2000). Manuel de la lutte contre la maladie du sommeil en Afrique Centrale et Occidentale: généralités. OCEAC; volume 1.
- Penchenier L., Grébaud P., Ebo'o Eyenga V., Bodo J. M., Njiokou F., Binzouli J. J., Simarro P., Soula G., Herder S. (1999). Le foyer de la Trypanosomiase Humaine Africaine de Campo (Cameroun) en 1998. Aspects épidémiologiques, état de l'endémie et comparaison des CATT 1.3 et CATT Latex dans le dépistage de masse. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 92, 185-190.
- Petersen T. F., Meier R., Narayanan S., Wiegmann B. M. (2007). The phylogeny and evolution of host choice in the Hippoboscoidea (Diptera) as reconstructed using four molecular markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.04.023>
- Phuc H. K., Ball A. J., Son L., Hanh N. V. , Tu N. D., Lien N. G., Verardi A., Townson H. (2003). Multiplex PCR assay for malaria vector *Anopheles minimus* and four related species in the Myzomyia Series from Southeast Asia. *Medical and Veterinary Entomology*, 17, 423-428.
- Prugnolle F. & De Meeûs T. (2002). Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a review. *Heredity*, 161-165. <https://doi.org/10.1038/sj/hdy/6800060>

R

- Ramos-onsins S. E., & Rozas, J. (2002). Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution*, 23(8), 1642-1642. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl052>
- Ratnasingham S. & Hebert P. D. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System <http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, 7, 355-364.
- Ravel S., De Meeus T., Dujardin J. P., Zézé D. G., Gooding R. H., Dusfour I., 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. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.07.002>
- Rayaisse J. B., Esterhuizen J., Tirados I., Kaba D., Salou E., Diarrassouba A., Solano P. (2011). Towards an optimal design of target for tsetse control: Comparisons of novel targets for the control of palpalis group tsetse in West Africa. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(9), 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001332>
- Rocha G., Martins A., Gama G., Brandao F., Atouguia J. (2004). Possible cases of sexual and congenital transmission of sleeping sickness. *The Lancet*, 363, 247. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)15345-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)15345-7)
- Rogers A. R. & Harpending H. (1992). Population Growth Makes Waves in the Distribution of Pairwise Genetic Differences ', *Molecular Biology and Evolution*, 9(3), 552-569.
- Rutto J. J. & Karuga J. W. (2009). Temporal and spatial epidemiology of sleeping sickness and use of geographical information system (GIS) in Kenya, *Journal of vector borne diseases*,

S

- Saccagi D. L., Kruger K., Pietersen G. (2008). A multiplex PCR assay for simultaneous identification of three mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) *bulletin of Entomologie Research*, 98, 27-33.
- Salducci M. D., Martin J., Pech N., Chappaz R., Costedoat C., Gilles A. (2004). Deciphering the evolutionary biology of freshwater fish using multiple approaches – insights for the biological conservation of the Vairone (*Leuciscus souffia souffia*). *Kluwer Academic Publishers*, 5, 63-77.
- Schneider S. & Excoffier L. (1999). Estimation of Past Demographic Parameters From the Distribution of Pairwise Differences When the Mutation Rates Vary Among Sites : Application to Human Mitochondrial DNA. *Genetics Society of America*, 152, 1079-1089.
- Simarro P. P., Cecchi G., Paone M., Franco J. R., Diarra A., Ruiz J. A., Fèvre E. M., Courtin F., Mattioli R.C., Jannin J.G. (2010). The Atlas of human African trypanosomiasis: a contribution to global mapping of neglected tropical diseases. *International journal of health geographics*, 9, 57.
- Simarro P. P., Franco J., Diarra A., Ruiz Postigo J.A., Jannin J. (2013). Diversity of human African trypanosomiasis epidemiological settings requires fine-tuning control strategies to facilitate disease elimination. *Research and Reports in Tropical Medicine*, 4, 1-6.
- Simo G., Asonganyi T., Nkinin S. W., Njiokou F., Herder S. (2006). High prevalence of *Trypanosoma brucei gambiense* group 1 in pigs from the Fontem sleeping sickness focus in Cameroon, 1-10. *Veterinary Parasitology*, 139(1-3), 57-66 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.02.026>
- Simo G., Fongho P., Farikou O., Ndjeuto-tchouli P. I. N., Tchouomene-labou J., Njiokou F., Asonganyi T. (2015). Trypanosome infection rates in tsetse flies in the “ silent ” sleeping sickness focus of Bafia in the Centre Region in Cameroon. *Parasites and Vectors*, 8(528), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1156-z>
- Simo G., Njiokou F., Mbida Mbida A., Njitchouang G.R., Herder S., Asongany T., Cuny G. (2008). Tsetse fly host preference from sleeping sickness foci in Cameroon: epidemiologic implication. *Infection, genetics and evolution*, 8, 34-39.
- Simo G., Silatsa B, Njiokou F, Lutumba P, Mansinsa P, Madinga J, Manzambi E, De Denken R, Asonganyi T. (2012). Identification of different trypanosome species in the mid-guts of tsetse flies of the Malanga (Kimpese) sleeping sickness focus of the Democratic Republic of Congo. *Parasite Vectors*, 5, 201.
- Simon C., Frati F., Bechenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 651-701.
- Slatkin M. & Hudson R. R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129, 555-562.
- Slatkin M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, 457-462.

- Smouse P. E., Long J. C., Sokal R. R. (1986). Multiple regression and correlation extensions of the Mantel Test of matrix correspondence. *Systematic Zoology*, 35, 627-632.
- Solano P., Cuny G., Duvallet G., Cuisance D., Ravel S., Sidibé I., Touré S. M. (1997). Les techniques de génétique moléculaire au service de l'épidémiologie des trypanosomoses. Intérêt de l'étude du polymorphisme des microsatellites des glossines. *Revue D'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux*, 50(4), 297-301.
- Solano P., De La Rocque S., De Méeus T., Cuny G., Duvallet G., Cuisance D. (2000). Microsatellite DNA markers reveal genetic differentiation among populations of *Glossina palpalis gambiensis* in the agropastoral zone of Sideradougou, Burkina Faso. *Insect Molecular Biology*, 9(4), 433-439.
- Solano P., Kaba D., Ravel S., Dyer N. A., Sall B., Vreysen M. J. B., Bouyer J. (2010)**b**. Population genetics as a tool to select tsetse control strategies: Suppression or eradication of *Glossina palpalis gambiensis* in the niayes of senegal. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(5), 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000692>
- Solano P., Ravel S., De Meeûs T. (2010)**a**. How can tsetse population genetics contribute to African trypanosomiasis control? *Trends in Parasitology*, 26(5), 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.02.006>
- Stevens J.R., Lanham S.M., Allingham R., Gashumba J. K. (1992) A simplified method for identifying subspecies and strain groups in Trypanozoon by isoenzymes. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 86, 9-28
- Steverding D. (2008). The history of African trypanosomiasis. *Parasites and Vectors*, 1, 3.
- Suchel J.B. (1988). Les climats du Cameroun, Thèse de doctorat d'état, 4 tomes, 1186p + 1 *Atlas*, Bordeaux.
- Sunnucks P., Wilson A. C., Beheregaray L. B., Zenger K., French J., Taylor A. C. (2000). SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology*, 9, 1699-710.
- T**
- Tajima F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105, 437-460.
- Tautz D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic acids research*, 17, 6463-6471.
- Teske P. R., Golla T. R., Sandoval-Castillo J., Emami-Khoyi A., Van derLingen C. D., Von der Heyden S., Chiazzari B., Van Vuuren B. J. and Beheregaray L. B. (2018). Mitochondrial DNA is unsuitable to test for isolation by distance. *Scientific Reports*, 8, 8448
- Truc P., Jamonneau V., N'Guessan P., N'Dri L., Boubacar D.P., Butigieg X. (1998). Simplification of the miniature anion-exchange centrifugation technique for the parasitological diagnosis of human African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 92. 512. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(98\)90895-1](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(98)90895-1).
- Tsagmo Ngoune J. M., Reveillaud J., Sempere G., Njiokou F., Melachio T. T., Abate L., Majoline T., Tchioffo M. T., Geiger A. (2019). The composition and abundance of

bacterial communities residing in the gut of *Glossina palpalis palpalis* captured in two sites of southern Cameroon. *Parasites and Vectors*, 12, 151. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3402-2>

V

Van der Planck F. L. (1949) The classification of *Glossina palpalis*, including the descriptions of new subspecies and hybrids. *Proceedings of the Entomological Society of London*, 18, 69-77.

Van Strien M. J., Holderegger R., Van Heck H. J. (2015) Isolation-by-distance in landscapes: considerations for landscape genetics. *Heredity*, 114, 27-37

Vennetier P., Laclavere G., Barry- Battesti A. F. (1978) - Atlas de la Côte-d'Ivoire. *Editions Jaguar*. Paris, France., 72 p.

Vreysen M. J. B. (1996) Evaluation of sticky panels to monitor populations of *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) on Unguja island of Zanzibar. *Bulletin of Entomological Research*, 86, 289-296.

Vreysen M. J. B., Saleh K. M., Ali M. Y. (2000) *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) eradicated on the Island of Unguja, Zanzibar, using the sterile insect technique. *Journal of Economic and Entomology*, 93, 123-135.

W

Weir B.S. & Cockerham C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358-1370.

Welburn S.C. & Maudlin I. (1992). The nature of the teneral state in *Glossina* and its role in the acquisition of trypanosome infection in tsetse. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 86, 529-536.

Wohlford D. L., Krafur E. S., Griffiths N. T., Marquez J. G., Baker M. D. (1999). Genetic differentiation of some *Glossina morsitans morsitans* populations. *Medical and Veterinary Entomology*, 13, 377-385. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2011.07.011>. In: *Innate*

Woo P. T. K. (1970). The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Tropica*, 27, 384-386.

Wright S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann Eugenics*, 15, 323-354.

ANNEXES

Annexe 1 : Extraction d'ADN à partir des pattes de glossines par la méthode de CTAB

L'ADN a été extrait des pattes de glossines par la méthode de CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) (Maniatis *et al.*, 1982). C'est une méthode de purification de l'ADN. Après avoir fait évaporer l'alcool qui permettait la conservation des échantillons (en laissant les tubes ouverts dans une étuve à 80°C), 600µL de tampon CTAB ont été ajoutés à chaque tube contenant l'intestin d'une glossine (ce tampon est préparé en mélangeant 10ml de CTAB 5% ; 2,5ml de TRIS 1M, pH=8 ; 1ml d'EDTA 0,5M, pH=8 ; 7ml de NaCl 5M ; 4,5ml d'eau distillée et 100µl de Béta-mercaptoéthanol). Les tissus ont par la suite été dilacérés à l'aide d'un piston et les échantillons ont été incubés au bain-marie, à 60°C pendant 30 minutes. Ensuite, 600µl d'une solution contenant un mélange dans les proportions 24 :1 respectives de chloroforme et d'alcool isoamylique ont été ajoutés à chaque tube. Les tubes ont été délicatement homogénéisés pendant 10 minutes et ont ensuite été centrifugés à 8000 tours par minute pendant 15 minutes. La phase aqueuse qui est la phase supérieure a été prélevée et transvasée dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5µl étiqueté et un volume d'isopropanol, égal au volume de la phase aqueuse prélevée y a été ajouté. Les tubes ont été une fois de plus homogénéisés (quelques secondes cette fois) et incubés à -20°C pendant 30 minutes, pour la précipitation des acides nucléiques. Après cette incubation, les tubes ont été centrifugés à 13000 tours par minute pendant 20 minutes, ce qui a permis à l'ADN de se tasser en un culot au fond du tube. Après évacuation du liquide surnageant, le culot a été lavé avec 1ml d'éthanol à 70° et les tubes ont une fois de plus été centrifugés à 13000 tours par minute pendant 15 minutes. Après évacuation de l'alcool et séchage du culot d'ADN, ce dernier a été suspendu dans 20µl d'eau stérile et conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

Annexe 2: Diagramme ombrothermique

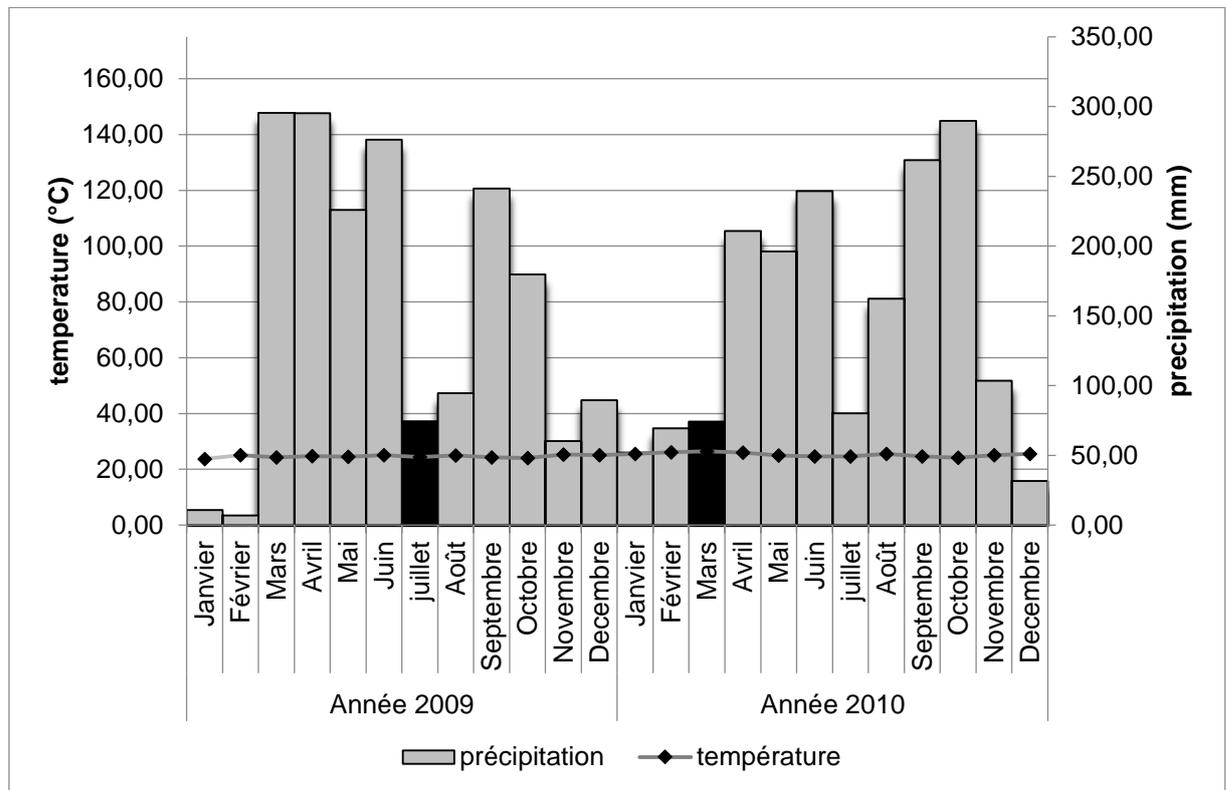


Diagramme ombrothermique des années de capture des glossines dans le foyer de Bipindi. Les bandes noires indiquent les mois pendant lesquels ont eu lieu les enquêtes entomologiques

Annexe 3 : Distribution des fréquences haplotypiques

Haplotypes	CAMEROUN				RDC	COTE D'IVOIRE	
	BIPINDI (138)	CAMPO (26)	FONTEM (30)	BAFIA (29)	MALANGA (57)	AZAGUIE (49)	NAGADOUA (50)
h1	0,014	-	-	-	-	-	-
h2	0,014	0,154	-	-	-	-	-
h5	0,109	-	-	-	-	-	-
h6	0,014	-	-	-	-	-	-
h7	0,007	-	-	-	-	-	-
h8	0,036	-	-	-	-	-	-
h9	0,703	0,846	-	-	-	-	-
h10	0,007	-	-	0,138	-	-	-
h11	0,007	-	-	-	-	-	-
h12	0,007	-	1	-	-	-	-
h15	0,029	-	-	-	-	-	-
h16	0,022	-	-	-	-	-	-
h17	0,014	-	-	-	-	-	-
h18	0,014	-	-	-	-	-	-
h3	-	-	-	0,034	-	-	-
h4	-	-	-	0,310	-	-	-
h13	-	-	-	0,448	-	-	-
h14	-	-	-	0,069	-	-	-
h19	-	-	-	-	0,561	-	-
h20	-	-	-	-	0,123	-	-
h21	-	-	-	-	0,070	-	-
h22	-	-	-	-	0,035	-	-
h23	-	-	-	-	0,070	-	-
h24	-	-	-	-	0,070	-	-
h25	-	-	-	-	0,070	-	-
h26	-	-	-	-	-	0,959	0,820
h27	-	-	-	-	-	0,020	-
h31	-	-	-	-	-	0,020	-
h28	-	-	-	-	-	-	0,06
h29	-	-	-	-	-	-	0,02
h30	-	-	-	-	-	-	0,02
h32	-	-	-	-	-	-	0,02
h33	-	-	-	-	-	-	0,02
h34	-	-	-	-	-	-	0,04

() nombre d'individus analysés

Articles publiés issus de la thèse

Tchoumène-Labou J, Nana-Djeunga H, Simo G, Njitchouang G. R, Cuny G, Asonganyi T, Njiokou F. (2013). Spatial and temporal variations of entomological and parasitological parameters characterising the transmission of sleeping sickness in the Bipindi focus of southern Cameroon: implications in the vector control. *Parasites and Vectors*, 6 :193.

Judith Tchoumène Labou, Tito Trésor Melachio-Tanekou, Gustave Simo, Dramane Kaba, Sophie Ravel, Flobert Njiokou.(2020) Single strand conformation polymorphism (SSCP) of mitochondrial genes enables to estimate genetic differentiation, demographic parameters and phylogeny of *Glossina palpalis palpalis* populations from west and central Africa. *Infection, Genetics and evolution*, 82, 104303.