

DIFFÉRENCIATION ET STRUCTURATION GÉNÉTIQUES DES POPULATIONS DE *GLOSSINA PALPALISPALPIS* DANS LA ZONE D'AZAGUIÉ (CÔTE D'IVOIRE) À L'AIDE DE MARQUEURS MICROSATELLITES

G.L Acpovi- Yao ¹, N.D Pokou ², L.GZakpa³

RÉSUMÉ

La structure génétique des populations de *Glossina palpalis palpalis* issues de deux sites de la ville d'Azaguie a été étudiée à l'aide de huit (08) marqueurs microsatellites polymorphes afin de détecter une éventuelle différence génétique entre les deux populations de ces sites géographiquement opposées. L'hétérozygotie moyenne observée (Hobs) a été de 0,65 pour la population 1 et de 0,58 pour la population 2 respectivement collectée à Azaguie-Bambou et Azaguie-Marcouguié. Les valeurs du F_{IS} ont été de 0,14 pour la population 1 (Azaguie Bambou) et de 0,22 pour la population 2 (Azaguie-Marcouguié). Ces valeurs positives traduisent un déficit en hétérozygote à l'intérieur des populations. Les marqueurs ont également permis de mesurer la valeur de F_{ST} , le degré de différenciation et de tester si cette subdivision est significative par randomisation. Les résultats de ces différentes analyses ont montré qu'il n'existe pas de différenciation génétique entre les populations 1 et 2. Cependant, la classification hiérarchique basée sur la similarité des allèles a montré cinq groupes génétiques constitués chacun d'individus issus des deux populations. Par conséquent, ces résultats suggèrent qu'aucune barrière n'existe entre les populations de glossines de ces deux sites.

Mots clés : Glossine, microsatellites, structure génétique, différenciation génétique.

ABSTRACT

Genetic structuring and differentiation of *Glossina palpalis palpalis* populations in Azaguie (Côte d'Ivoire) using microsatellite markers

The genetic structure of *Glossinapalpalispalpalis* populations in two sites around the town of Azaguie have been studied using eight polymorphic microsatellite markers to identify eventual isolation between the two populations living in geographically opposite sites. The result showed that heterozygosity (Hobs) was 0.65 in population 1 and 0.58 for population 2 respectively collected in Azaguie-Bambou and Azaguie-Marcouguie. The F_{IS} value was 0.14 for population 1 and 0.22 for population 2. These positive values translate into a heterozygote deficit within populations. These markers have allowed to estimate F_{ST} value, which is a measure of the degree of differentiation and to test for the significance of such subdivision by randomization tests. These calculations showed no evidence for genetic differentiation between populations 1 and 2. However, hierarchical clustering based on alleles similarity showed five genetic groups composed by individuals from the two populations. These results suggest that no barrier exists between these two sites.

Keyword: *Glossina*, microsatellite, genetic structure, genetic differentiation

¹ Université Félix Houphouët - Boigny, UFR Biosciences, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³Ministère des Ressources Animales et halieutiques (MIRAH), BPV 185 Abidjan

² Centre National de Recherche Agronomique – Laboratoire Central de Biotechnologies (CNRA-LCB), 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Auteur pour correspondance: Geneviève ACAPOVI – YAO

Email : acapovi_yao@yahoo.fr, Tél :00 225 02 00 17 89

Introduction

La trypanosomose humaine africaine (THA ou maladie du sommeil) chez l'homme et les trypanosomoses animales africaines (TAA ou nagana) chez le bétail sont des parasitoses causées par des protozoaires flagellés sanguicoles du genre *Trypanosoma*. Ces trypanosomes sont transmis à l'homme et aux animaux par des insectes Diptères du genre *Glossina*, aussi appelés mouches tsé-tsé.

Ces parasitoses engendrent un problème majeur de santé publique et de pauvreté. En l'absence de traitement, elles sont souvent létales pour les hôtes. Les TAA font perdre à l'Afrique subsaharienne 4,5 milliards de dollars américains, par an (Budd, 1999). La THA touche les populations actives des zones

rurales les plus pauvres, et sa prévalence est particulièrement élevée dans les pays connaissant des agitations sociopolitiques (Wembonyama *et al.*, 2007).

Les trypanosomoses du bétail constituent une entrave majeure au développement de l'élevage et du système agricole dans les pays touchés. Selon FAO (2008), cette maladie représente la première maladie à transmission vectorielle chez le bétail en Afrique au sud du Sahara, et touche environ 50 millions de têtes de bétail dont trois millions périssent chaque année. Les trypanosomoses africaines touchent donc doublement les humains, directement par l'impact sanitaire de la THA, et indirectement à travers l'atteinte du secteur de l'élevage et les impacts sur l'agriculture (Swallow, 2000).

Ces maladies, après des années de négligence, sont fortement ré-émergentes et ont actuellement un impact considérable sur la santé publique et le développement économique en Afrique sub-saharienne (Louis *et al.*, 2001).

Le traitement de la THA reste difficile, malgré les espoirs suscités par les nouvelles combinaisons thérapeutiques (NECT) surtout pour traiter les patients en seconde phase de la maladie. Le traitement de la TAA est quant à lui sujet à une résistance de plus en plus accrue des trypanosomes aux trypanocides.

Dans un tel contexte, une lutte intégrée associant à la fois la lutte contre l'agent pathogène et celle contre le vecteur s'avère le moyen le plus sûr pour contrôler ces maladies.

C'est dans cette optique que la lutte contre les glossines vectrices prend un intérêt certain, avec pour espoir de contrôler plus efficacement les trypanosomoses africaines.

Les recherches sur la biologie des vecteurs prennent de plus en plus en compte l'étude de la structure génétique de leurs populations et de leur compétence vectorielle vis-à-vis des trypanosomes comme préalable au développement de protocoles de lutte antivectorielle.

La Côte d'Ivoire est le deuxième pays touché en Afrique de l'Ouest par la maladie du sommeil. Cependant, très peu d'information existe sur la diversité génétique de *Glossina palpalis palpalis* dans certaines zones de ce pays. C'est le cas de la zone d'Azaguié qui a été choisie pour mener cette étude. Des enquêtes effectuées de Décembre 2009 à Mars 2010 ont montré une forte densité de glossines (jusqu'à 60 mouches/piège/jour). La forte densité de glossines associée à la présence d'élevages de porcs et de bovins, constitue un véritable risque pour les populations humaines. Certains animaux comme les porcs pourraient héberger le parasite pathogène pour l'homme (Laveissière *et al.*, 1985). L'objectif de cette étude est donc d'évaluer la structure génétique des populations de glossines de deux sites diamétralement opposés, situés de part et d'autre de la ville d'Azaguié, à l'aide de marqueurs microsatellites, afin de permettre la mise en oeuvre d'une stratégie de lutte antivectorielle plus appropriée et plus efficace.

Matériel et Méthodes

Zone d'étude

L'étude a été conduite dans la zone d'Azaguié (4°04'48''W et 5°37'55''N), ville située à environ 45 km d'Abidjan, 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 caractérisé 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°C à 29°C. Les mois de février, mars et avril sont généralement les plus chauds.

Les enquêtes entomologiques ont été réalisées en mars 2011, sur deux sites diamétralement opposés, séparés d'environ 15 km : Azaguié Marcouguié (non loin du village de Marcouguié) et Azaguié Bambou (non loin du lycée de la ville). Dix pièges Vavoua, pour la capture des glossines ont été posés à l'intérieur de chaque site et une distance d'environ 300 m séparait chaque piège (Figure 1).



Figure 1 : Localisation des sites d'étude et des points de capture

▲ = piège Vavoua, P1 : en rouge, P2 : en orange

Chaque piège a été maintenu pendant quatre jours consécutifs avec des cages changées tous les jours. Une identification spécifique a été effectuée afin de ne retenir que les individus appartenant à l'espèce *G. p. palpalis*. Ces insectes ont été traités comme suit: après sexage, trois pattes ont été prélevées et recueillies dans des tubes eppendorf à sec pour l'extraction d'ADN et le génotypage au laboratoire.

Un total de 190 *G. p. palpalis* ont été capturées sur l'ensemble des deux sites dont 123 ont été retenues pour le génotypage : 55 glossines (28 femelles et 27 mâles) provenant d'Azaguié Bambou et 68 glossines (37 femelles et 31 mâles) provenant d'Azaguié Macouguié.

Analyses moléculaires

L'ADN a été extrait, à partir des tissus des pattes des glossines selon la méthode au chelex. Ainsi, trois pattes d'insectes ont été broyées dans 200 µl d'une solution de chelex 100 à 5%. L'ensemble a été incubé pendant une heure à 56 °C puis pendant 30 min à 95 °C avant d'être centrifugé à 13000 tours/min pendant 3 min (Walsh *et al.*, 1991; Solano *et al.*, 2000). Une PCR diagnostique développée à partir de l'analyse des séquences ITS1 des glossines du groupe *palpalis* (Dyer *et al.*, 2008) permet de différencier *G. p. palpalis* (Gpp) de *G. p. gambiensis* (Gpg) et de *G. tachinoides* (Gt) dont les produits d'amplification présentent des tailles différentes: Gpg = 168bp, Gpp= 241bp, Gt= 221bp.

Cette PCR a été utilisée sur tous les échantillons à génotyper pour confirmer la sous-espèce (Gpp) et vérifier la qualité de l'ADN obtenu. Huit marqueurs microsatellites ont été utilisés pour le génotypage. : 55.3 (Solano *et al.*, 1997), Pgp13 et Pgp24 (Luna *et al.*, 2001), B3, B104, C102 et B110 et GpCAG133. Parmi ces marqueurs, 55.3, Pgp13, B104 et B110 sont situés sur le chromosome X ; ce qui implique qu'à ces loci les génotypes de tous les mâles seront haploïdes. Les marqueurs des chromosomes sexuels X n'ont pas contribué à la détermination du niveau d'hétérozygotie.

Les PCR ont été réalisées en plaques de 96 puits, suivant un protocole permettant de marquer les produits d'amplification pour les détecter ensuite par infra-rouge au cours de la migration. Les produits d'amplification sont ensuite migrés sur gel de polyacrylamide 6,5% à l'aide d'un séquenceur de type LI-COR 4300 (Lincoln, NE) comme décrit par Solano *et al.* (2009). La lecture des gels est réalisée à l'aide du logiciel SAGA GT.

Variabilité génétique

Paramètres décrivant la variabilité génétique des populations

Pour chaque locus et chaque population, les indices suivants ont été déterminés : le nombre moyen d'allèles, la richesse allélique, le taux d'hétérozygotie et l'indice de fixation (Fis). Le nombre moyen d'allèles par locus est déterminé par le nombre total d'allèles trouvés dans une population divisée par le nombre de locus. Il est exprimé selon la formule suivante :

$$n = 1/L \sum_{i=1}^L n_i$$

N : nombre moyen d'allèles par locus

n_i : nombre d'allèles recensés au locus *i* ; *L* : nombre de locus

Différenciation génétique des populations

La différenciation génétique des populations a été analysée par l'estimation des indices de fixation de Wright (1965) ou statistiques *F* : *F_{ST}* et *F_{IS}*. Cette différenciation a été effectuée selon la méthode de Weir et Cockerham (1984).

◆ L'indice *F_{IS}*, mesure dans une sous population donnée la consanguinité des individus relativement à celle de leur sous-population. Il mesure donc aussi l'écart local par rapport aux

attendus panmictiques. Sa formule paramétrique est la suivante (Nei et Chesser, 1983):

$$◆ \quad F_{is} = 1 - H_o/H_e$$

Où *H_o* est l'hétérozygotie observée et *H_e* l'hétérozygotie attendue.

Le *F_{IS}* indique une adéquation avec les proportions attendues sous panmixie quand il est nul 0. Des valeurs positives traduisent des déficits en hétérozygotes alors que de valeurs négatives traduisent des excès d'hétérozygotes.

◆ L'indice *F_{ST}* correspond à la consanguinité relative des sous-populations par rapport à la consanguinité totale. Il est paramétriquement défini par la relation établie par Nei *et al.* (1983) $F_{st} = 1 - H_s/H_T$

Où *H_s* représente la diversité génétique moyenne des sous-populations et *H_T* la diversité génétique totale.

Structuration génétique des populations

◆ Analyse factorielle des correspondances (AFC)

L'analyse factorielle des correspondances multiples a été réalisée à partir des données de la matrice de dissimilarité des insectes.

◆ Arbre de Classification

La classification des individus analysés a été réalisée par la méthode NeighborJoining sur la base de la similarité des allèles.

Les données obtenues ont été analysées à l'aide des logiciels Genetix version 4.03 Arlequin version 3.1 et F-STAT version 2.9.3. L'analyse factorielle des correspondances (AFC) et la classification des individus ont été réalisées à l'aide du logiciel Darwin version 5.0.158.

Résultats

Espèces de glossines et effectifs des échantillons

Au cours des enquêtes entomologiques, un effectif total de 190 glossines composées de 114 femelles et de 76 mâles soit une densité apparente par piège et par jour (DAP) totale de 4,8 glossines par piège/jour et un sex-ratio de 1,5 a été observé sur les 2 sites.

■ Au niveau d'Azaguié Bambou, l'effectif de 90 glossines

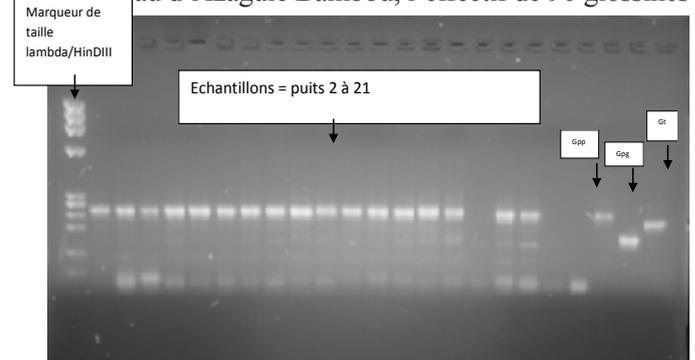


Figure 2 : Produits d'amplification de la PCR diagnostique après migration sur gel d'agarose 2% et coloration du gel au bromure d'éthidium

capturées est composé de 59 femelles et 31 mâles soit une DAP totale de 2,3 glossines par piège/jour et un sex-ratio (F/M) de 1,9.

A AzaguiéMarcouguié, 100 glossines ont été capturées : 55 femelles et 45 mâles soit une DAP totale de 2,5 glossines par piège/jour et un sex-ratio de 1,2 (F/M).

PCR Diagnostique

Sur le total des 190 glossines capturées, 123 glossines ont été retenues pour le génotypage : 55 glossines (28 femelles et 27 mâles) provenant d’Azaguié Bambou et 68 glossines (37 femelles et 31 mâles) provenant d’AzaguiéMarcouguié.

Le résultat de la PCR diagnostique amontré que cinq échantillons présentent une bande à 168bp (Gpg) seule ou en association avec la bande à 241bp (Gpp) (Figure 2).

Amplification des huit séquences microsatellites

Ces amplifications ont concerné uniquement les échantillons qui ont présenté en PCR diagnostique un profil identique à celui du témoin Gpp, soit 118 échantillons.

Au final, ce sont 115 échantillons génotypés aux huit loci microsatellites qui ont fait l’objet de cette analyse : 54 échantillons provenant d’Azaguié Bambou (Population 1) et 61 échantillons provenant d’AzaguiéMarcouguié (Population 2). Par ailleurs, les marqueurs des chromosomes sexuels X n’ont pas contribué à la détermination du niveau d’hétérozygotie.

Tableau I: Hétérozygotie observée (Hobs) et Hétérozygotie attendue (He) à chaque locus

locus	Hobs	He	P-value
pGp24	0.67	0.65	0.11944 ns
B3	0.42	0.73	0.00042 ***
C102	0.65	0.66	0.49169 ns
GPCAG	0.73	0.85	0.82712 ns

Diversité génétique des populations étudiées

- Variabilité intra-population

En considérant l’ensemble des deux populations, le nombre d’allèles par locus a varié de 8 à 27. Les huit loci microsatellites utilisés ont présenté respectivement : 19 (X 55.3), 23 (XPgP13), 13 (PgP24), 10 (B3), 27 (XB104), 19 (XB110), 8 (C102) et 8 (GPCAG) allèles (Figure 3). Sur l’ensemble des populations, le nombre d’allèles par locus a varié de 8 aux loci C102 et GPCAG à 27 au locus XB104.

L’hétérozygotie moyenne observée (Hobs) a été de 0,65 pour la population 1 (Azaguié Bambou) et de 0,58 pour la population 2 (AzaguiéMarcouguié).

Les valeurs du F_{is} ont été de 0,14 pour la population 1 et de 0,22 pour la population 2 avec une P-value de 0,002. Ces valeurs positives traduisent un déficit en hétérozygote (Tableau I).

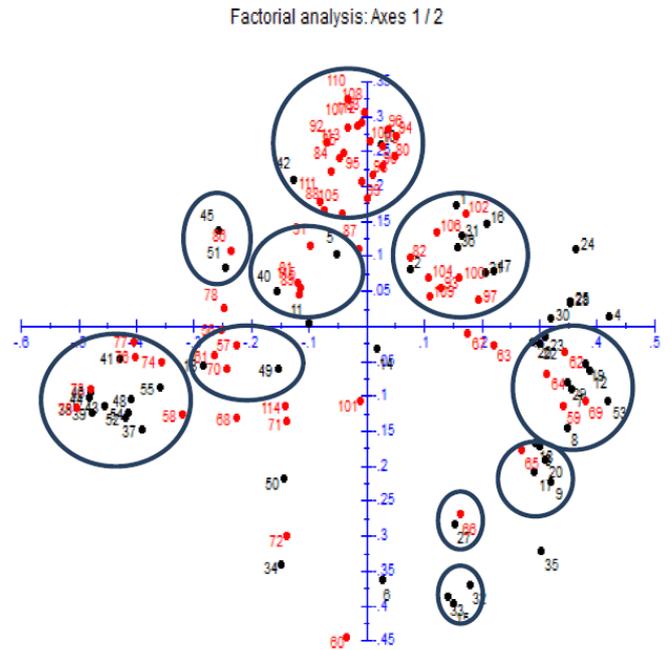


Figure 3 : Représentation des populations étudiées sur le plan 1-2 de l’analyse factorielle des correspondances. ● P1 ● P2
• Différenciation génétique

Le calcul du F_{ST} selon Weir et Cockerham ($F_{ST} = 0,003$) avec une P-value de 0.8 montre une différenciation génétique très faible et non significative entre les populations 1 et 2.

La valeur de la distance génétique calculée selon Nei 1978

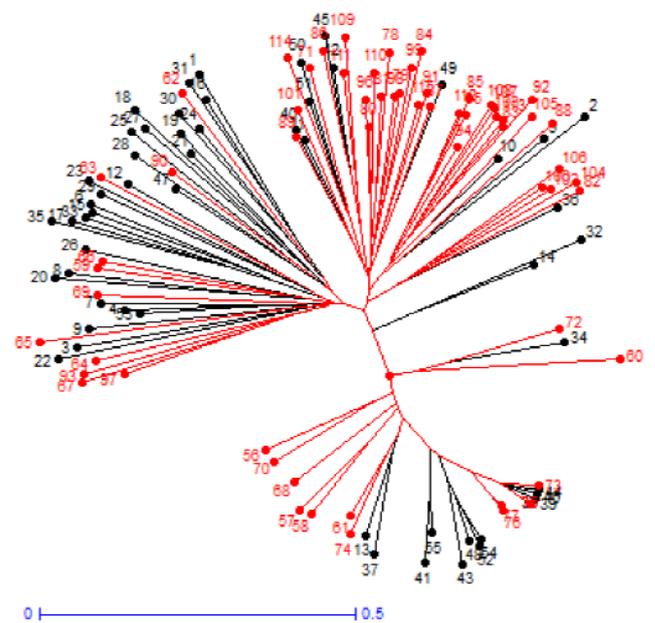


Figure 4 : Structuration génétique des glossines par Neighbor Joining. ● P1 ● P2

entre la population 1 et la population 2 est de 0.07. La valeur du coefficient de différenciation génétique, G_{st} est de 0.004.

- La structuration génétique

La structuration génétique de ces populations a été également examinée par l’analyse factorielle des correspondances (AFC). Les résultats de cette analyse ont montré que le plan 1-2 explique 38% de variabilité totale. Il ressort de la structuration mise en évidence dans ce plan deux groupes

génétiques. Cependant, chaque groupe contient des glossines de chacune des deux populations étudiées (Figure 3).

Par ailleurs, les analyses génétiques, à travers la réalisation d'un arbre de classification par la méthode NeighborJoining, ont démontré que les glossines se répartissent en 5 groupes génétiques. Aucun groupe ne contient des glossines d'une seule population (Figure 4).

Discussion

La présente étude conduite sur deux sites de la ville d'Azaguié (Azaguié Bambou et Azaguié Marcouguié) en Côte d'Ivoire répondait dans un premier temps à un besoin de confirmation des espèces de glossines ou mouches tsé-tsé présentes dans cette région et dans un second temps à un besoin d'acquisition de connaissances sur la structure génétique des populations qui permettra le choix de la stratégie de lutte anti-vectorielle la plus appropriée.

La PCR diagnostique a identifié une seule espèce *Glossinapalpalis palpalis*, à Azaguié Marcouguié et Azaguié Bambou. *G. p. palpalis* est une espèce anthropozoophile, elle a en plus, une très grande capacité d'adaptation à divers milieux tels les environnements humains (Ebeja *et al.*, 2003 ; Allou *et al.*, 2009 ; Courtin *et al.*, 2005). Elle devient de ce fait le vecteur le plus dangereux dans la moitié Sud forestier du pays (Challier et Gouteux, 1980 ; Gouteux *et al.*, 1982), notamment dans le Centre ouest où elle est responsable de la transmission de la maladie du sommeil dans les foyers de THA, qui sont de plus en plus urbains (Fournet *et al.*, 1999 ; Laveissière *et al.*, 2003 ; Solano *et al.*, 2003). Cette espèce s'adapte aux milieux urbains, environnement pourtant très pollué par les évacuations industrielles et les engins motorisés (Miaka *et al.*, 2001). Les travaux de Bosson et Kaba (2009) sur le site d'Azaguié, ont montré la présence de cette espèce. Ils ont capturé au cours de leur enquête 7972 *Glossinapalpalis palpalis*, soit une densité apparente (DAP) de 17,61 Gpp/piège/jour. Ainsi la présence en pleine ville de cette espèce n'est pas sans danger pour les populations car la crise sociopolitique qu'a connue la Côte d'Ivoire a entraîné le déplacement de nombreuses populations des zones d'endémies vers les villes dont Abidjan et Azaguié. Les glossines à proximité des élevages de porcs et de bovins, constituent un véritable risque pour les populations humaines. Certains animaux comme les porcs peuvent héberger le parasite humain (Laveissière *et al.*, 1985).

Dans les deux sites, les valeurs de F_{IS} positives ont traduit un déficit en hétérozygote, avec un nombre élevé d'allèles par locus, ce qui fait penser à une population à grande diversité génétique. L'étude préliminaire sur les populations de *G. palpalis gambiensis* au Burkina Faso à l'aide marqueurs microsatellites a donné des valeurs élevées de F_{IS} qui ont été expliquées par l'existence d'un effet Wahlund (Solano *et al.*, 2000). La variabilité génétique pourrait être liée à la distance géographique à l'échelle macro-géographique (Melachio *et al.*, 2011) et qu'à une échelle micro-géographique, le degré de variation est étroitement liée à l'étendue de l'habitat (Ravel *et al.*, 2007), comme cela est le cas avec *G. palpalis gambiensis* au Burkina Faso (Bouyer *et al.*, 2007).

La différenciation génétique très faible (non significative)

entre les deux populations étudiées, indique qu'il n'y a pas de différenciation génétique significative entre les deux sites. Tout se passe comme si les individus de chaque site provenaient d'une seule et même population.

Les résultats obtenus dans cette étude sont comparables à ceux obtenus par Kaba *et al.*, 2012 sur les populations de *G. palpalis palpalis* du Zoo, de l'Université Nangui Abrogoua ex-Abobo-Adjamé de la forêt du Banco à Abidjan en Côte d'Ivoire. Leurs résultats ont également indiqué l'origine unique des trois populations de *G. palpalis palpalis*. Les résultats de ces analyses génétiques ont conduit à l'existence probable de flux géniques entre les populations de ces trois sites. A l'échelle microgéographique, c'est à dire à Abidjan, ces 3 populations sont proches, d'où l'existence probable de flux génique entre ces différentes populations de *G. p. palpalis*. Par contre, les résultats de la présente étude diffèrent de ceux des travaux réalisés sur les îles de Loos en Guinée et de la région des Niayes au Sénégal pour lesquels les études de génétique des populations ont montré l'isolement des populations de glossines présentes, ces populations de glossines ont été considérées comme isolées (Solano *et al.*, 2009 ; Solano *et al.*, 2010 ; Kaba, 2014).

Les analyses génétiques ont également montré que les glossines se répartissaient en 5 groupes génétiques. Aucun groupe ne contient des glossines d'une seule population. Cependant, faute de génotypes de référence, il n'a pas été possible d'identifier chacun de ces groupes ou sous-populations. Ces entités génétiquement très distantes suggèreraient la coexistence d'écotypes ou de sous-espèces (De Meeûs *et al.*, 2015). La diversité génétique observée pourrait être un facteur à considérer dans l'adaptation des glossines aux milieux.

Par ailleurs, ces analyses ont montré que le nombre d'allèles est plus élevé dans la population 1 au niveau de certains locus. Ceci laisse suggérer que les glossines de la population 2 seraient venues du premier site. Le groupe le plus grand est dominé par la population 2 alors que les plus petits groupes sont dominés par les individus de la population 1.

Conclusion

Cette première étude sur la génétique des populations de glossines sur les sites d'Azaguié avec l'utilisation des marqueurs microsatellites a montré une absence d'isolement entre les populations de ces 2 sites. La différenciation génétique très faible entre les deux populations étudiées, indique qu'il n'y a pas de différenciation génétique significative entre les deux sites. Tout se passe comme si les individus de chaque site provenaient d'une seule et même population. Des études complémentaires avec un échantillonnage plus large et l'utilisation des différents logiciels devraient permettre de définir le groupe génétique le plus fiable et les individus qui constituent chaque groupe génétique. Cette première étude est le point de départ d'une longue série d'études qui permettra de mettre en place une stratégie de lutte fiable et durable.

Remerciements

Nos sincères remerciements vont à l'équipe "trypano" de

l'IPR pour les enquêtes de terrain. Au Dr Sophie Ravel qui a aidé pour génotypage au laboratoire (UMR 177 IRD/CIRAD) à Montpellier, France et au Dr Thierry De Meeûs pour sa contribution à l'amélioration du manuscrit.

Références Bibliographiques

Allou K, Acapovi-Yao G, Kaba D, Bosson-Vanga H, Solano P et N'goran K.E. 2009. Chorologie et infection par les Trypanosomes de *Glossinapalpalispalpalis* dans la forêt du Banco et ses reliques, Abidjan (Côte d'Ivoire), *Parasite*, 16: 289-295.

Bouyer J, Ravel S, Dujardin JP, de Meeus T, Vial L, Thévenon S, Guerrini L, Sidibé I, Solano P. 2007. Population structuring of *Glossinapalpalisgambiensis* (Diptera: Glossinidae) according to landscape fragmentation in the Mouhoun River, Burkina Faso. *Journal of Medical Entomology*, 44 (5) : 788-795.

Bosson et Kaba. 2009. Premiers essais de terrain pour le développement de pièges et écrans de lutte contre le vecteur de la THA. Rapport de mission, 16p.

Budd L. 1999. DFID-funded tsetse and trypanosome research and development since 1980. Vol. 2. Economic analysis. Aylesford, UK, DFID Livestock Production, Animal Health and Natural Resources Systems Research Programmes. 123 pp.

Challier A et Gouteux J.P. 1980. Ecology and epidemiological importance of *Glossinapalpalis* in the Ivory Coast forest zone. *Insect Science Application*, 1 : 77-83.

Thierry De Meeûs, Jérémy Bouyer, Sophie Ravel, Philippe Solano. 2015. Ecotype Evolution in *Glossinapalpalis* Subspecies, Major Vectors of Sleeping Sickness. PLOS Neglected Tropical Diseases, 1-16.

Dyer N.A, Lawton S.P, Ravel S, Choi K.S, Lehane M.J, Robinson A.S, Okedi L.M, Hall M.J.R, Solano P, Donnelly M.J. 2008. Molecular phylogenetics of tsetse flies (Diptera : Glossinidae) based on mitochondrial and nuclear ribosomal DNA sequences, with an emphasis on the palpalis group. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49 : 227-239.

Courtin F, Dupont S, Zeze D.G, Jamonneau V, Sané B, Coulibaly B, Cuny G, Solano P. 2005. Trypanosomose Humaine Africaine: transmission urbaine dans le foyer de Bonon (Côte d'Ivoire). *Tropical Medicine and International Health*, 10 : 340-346.

Ebeja K.A, Lutumba P, Molisho D, Kegels G, Miakamia Bilenge C. et Boelaert M. 2003. La maladie du sommeil dans la Ville de Kinshasa : une analyse rétrospective des données de surveillance sur la période 1996-2000. *Tropical Medicine and International Health*, 8 : 949-955.

Fournet F, Traoré S. et Hervouët J-P. 1999. Effects of urbanization on transmission of human African trypanosomiasis in a suburban relict forest area of Daloa, Côte d'Ivoire. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 93: 130-132.

FAO. 2008. A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African Animal trypanosomiasis. FAO, Rome, 157p.

Gouteux J.P, Laveissière C et Boreham P.F.L. 1982. Ecologie des glossines en secteur préforestier de Côte d'Ivoire. Les préférences trophiques de *Glossinapalliceraet G. nigrofusca*. Comparaison avec *G. palpalis* et implications épidémiologiques. *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie médicale et Parasitologie*, 20 : 109-124.

Kaba D. 2014. Morphométrie géométrique appliquée aux mouches tsé-tsé : Taxonomie et identification de populations isolées pour la lutte contre les tsé-tsé et les trypanosomoses. Thèse de doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 247p.

Kaba D, Ravel S, Acapovi-Yao G, Solano P, Allou K, Bosson-Vanga H, Gardes L, N'Goran K.E, Chris J.S, Kone M. and Dujardin J.P. 2012. Phenetic and genetic structure of tsetse fly populations (*Glossinapalpalispalpalis*) in southern Ivory Coast. *Parasites and Vectors*, 5: 153.

Laveissière C, Hervouët J.P, Couret D, Eouzan J.P. et Merouze F. 1985. La campagne pilote de lutte contre la trypanosomiase humaine dans le foyer de Vavoua (Côte d'Ivoire). La mobilisation des communautés rurales et l'application du piégeage. *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie médicale et Parasitologie*, 23 : 167-185.

Laveissière C, Sané B, Garcia A. 2003. Lutte contre la Maladie du Sommeil et Soins de Santé Primaires. *Didactiques. IRD éd.*, 243p.

Louis F.J, Mia Bilengue C.M, Lucas P & Jannin J. 2001. La trypanosomose humaine africaine en milieu urbain: une problématique émergente. 6^{ème} Congrès International Francophone de Médecine Tropicale, Santé et urbanisation en Afrique, Dakar.

Luna C, Bonizzoni M, Cheng Q, Aksoy S, Zheng L. 2001. Microsatellite polymorphism in the tsetse flies (*Diptera: Glossinidae*). *Journal Medical Entomology*, 38: 376-381.

Melachio Tanekou T.T, Simo G, Ravel S, de Meeus T, Causse S, Solano P, Lutumba P, Asonganyi T, Njiokou F. 2011. Population genetics of *Glossinapalpalispalpalis* from central African sleeping sickness foci. *Parasites Vectors*, 4(1):140.

Miaka Mia Bilengue C, Kande Betu Ku Meso V, Louis F.J, Lucas P. 2001. Trypanosomiase humaine africaine en milieu urbain : l'exemple de Kinshasa, République Démocratique du Congo, en 1998 et 1999. *Médecine Tropicale*, 61 : 445-448.

Nei M, Chesser R.K. 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities. *Annals of Human Genetics*. 47: 253-259.

Ravel S, de Meeus T, Dujardin JP, Zeze D. G, Gooding R. H, Dusfour I, Sane B, Cuny G, Solano P. (2007). The tsetse fly *Glossinapalpalispalpalis* is composed of several genetically differentiated small populations in the sleeping sickness focus of Bonon, Cote d'Ivoire. *Infection Genetics and Evolution*, 7(1) : 116-125.

Solano P, Ravel S, Bouyer J, Camara M, Kagbadouno M, Dyer N, Gardes L, Herault D, Donnelly M.J. et de Meeus T. 2009. The population structure of *Glossinapalpalisgambiensis* from island and continental locations in coastal Guinea.

PLOS Neglected Tropical Diseases, 3(3) : e392.

Agriculture. *PAAT Technical and Scientific Series 2*. Rome, FAO.

Solano P, De la Rocque S, de Meeus T, Cuny G, Duvallet G. et Cuisance D.2000. Microsatellite DNA markers reveal genetic differentiation among populations of *Glossinapalpalisgambiensis* in the agropastoral zone of Sideradougou, Burkina Faso. *Insect Molecular Biology*, 9 : 433-439.

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

Solano P, Koné A, Garcia A, Sané B, Michel V, Coulibaly B, Jammoneau V, Kaba D, Dupont S, Fournet F. 2003. Représentation spatiale des déplacements des malades dans un foyer de trypanosomiase humaine africaine de Côte d'Ivoire. *Médecine Tropicale*, 63 : 577-582.

Walsh S. P, Metzger D. A and Higuchi R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material. *Research Report*, 10: 506-513.

Solano P, Duvallet G, Dumas V, Cuisance D et Cuny G. 1997. Microsatellite markers for genetic population studies in *Glossinapalpalis* (Diptera: Glossinidae). *Acta Tropica*, 65 : 75-180.

Weir, B.S. and Cockerham C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.

Wembonyama S, Mpaka S, Tshilolo L. 2007. Médecine et santé en République Démocratique du Congo : de l'indépendance à la 3^{ème} République. *Médecine Tropicale*, 67 : 447-457.

Swallow B.M. 2000. Impact of Trypanosomiasis on African

Wright S.1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*, 19: 395-420.