



**HAL**  
open science

# Identification, écologie et utilisation des diptères hématophages (glossine, stomoxe et tabanide) comme moyen d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage dans quatre parcs du Gabon

Paul Yannick Bitome Essono

## ► To cite this version:

Paul Yannick Bitome Essono. Identification, écologie et utilisation des diptères hématophages (glossine, stomoxe et tabanide) comme moyen d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage dans quatre parcs du Gabon. Santé. Université de Bourgogne, 2015. Français. NNT : 2015DIJOS048 . tel-01537110

**HAL Id: tel-01537110**

**<https://theses.hal.science/tel-01537110v1>**

Submitted on 12 Jun 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UMR CNRS 6282 - BIOGÉOSCIENCES

**THÈSE**

Pour obtenir le grade de

**Docteur de l'Université de Bourgogne**

Discipline : Biologie des Organismes et des Populations

Spécialité: Entomologie Médicale

par

**Paul Yannick BITOME ESSONO**

Le 10 Décembre 2015

---

**Identification, écologie et utilisation des diptères hématophages (glossine, stomoxe et tabanide) comme moyen d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage dans quatre parcs du Gabon.**

---

Sous la direction de

**Pr. François BRETAGNOLLE**, Directeur de Thèse

Composition du Jury :

<b>M. Philippe SOLANO</b> , Directeur de Recherche, IRD-CIRAD	Rapporteur
<b>M. Serge MORAND</b> , Directeur de Recherche, Université de Montpellier 2	Rapporteur
<b>M. Loïc BOLLACHE</b> , Professeur, Université de Bourgogne	Examineur
<b>Mme Marie-Jeanne PERROT-MINNOT</b> , Maître de conférence, Université de Bourgogne	Examineur
<b>M. Christophe PAUPY</b> , Chargé de Recherche, IRD	Examineur
<b>M. Gérard DUVALLET</b> , Professeur Émérite, Université Paul-Valéry Montpellier	Examineur
<b>M. François BRETAGNOLLE</b> , Professeur, Université de Bourgogne	Directeur de Thèse



## INSTITUTIONS PARTENAIRES

Ce travail a été réalisé grâce à l'appui:

### Financier de:



Agence Universitaire de la Francophonie (AUF)



Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) de l'Ambassade de France au Gabon



Institut Français du Gabon (IFG)



### Et institutionnel de:



Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CENAREST) du Gabon



Agence National des Parcs Nationaux (ANPN) du Gabon



Université des Sciences et Techniques de MUSUKU (USTM)

## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon Directeur de Thèse, Pr. François BRETAGNOLLE pour m'avoir permis de réaliser cette thèse. Merci d'avoir cru en moi, d'avoir pris ton temps pour m'accompagner sur le terrain, et dans toutes les démarches administratives liées à la recherche des financements et l'établissement des collaborations. Merci de m'avoir facilité l'accès au CIRMF, où j'ai pratiquement réalisé ma thèse sous le co-encadrement des Dr. Christophe PAUPY, Dr. Franck PRUGNOLLE et Dr. Benjamin OLLOMO. Merci à tous les trois pour votre accueil au CIRMF, pour avoir cru en notre sujet et merci pour toutes les améliorations que vous avez apportées à ce travail. Merci à vous de m'avoir formé sur les aspects moléculaires, de m'avoir encouragé et de vous être mobilisés lorsque rien ne fonctionnait en biologie moléculaire. En effet, votre rencontre a été déterminante dans la réalisation de ma thèse car ma première année au Gabon a été difficile et peu fructueuse due à des problèmes logistiques et financiers.

Mes sincères remerciements à l'ensemble du personnel du CIRMF dont Monsieur le Directeur Général Dr. Eric LEROY. Votre établissement m'a apporté toute l'aide logistique nécessaire à la réalisation de ma thèse et je vous en serai toujours reconnaissant. Merci à Monsieur Fabrice NDIMBI DEMBA, Directeur des Affaires Financières (DAF), pour sa réactivité lors des transactions financières avec l'AUF ou l'Université de Bourgogne. Merci à Boris MAKANGA, à Nancy MOUKODOUM, à Lauriane YACKA et à Céline ARNATHAU pour leur assistance au laboratoire. Merci à l'ensemble des techniciens et chauffeurs qui m'ont accompagné sur le terrain. Merci également à l'ensemble des chercheurs et doctorants pour leur sympathie: Pr. Jean-Bernard LEKANA-DOUKI, Dr. Virginie ROUGERON, Dr. Augustin MOUINGA ONDEME, Dr. Gaël MAGANGA, Dr. Lucrèce DELICAT, Mr Bertrand MVE ONDO, Mr Judicaël OBAME NKOGHE, Mr Karl IMBOUMY et Mr Illich MOMBO.

Mes remerciements vont également à l'ensemble du personnel de l'Institut de Recherche en Écologie Tropicale (IRET). Merci au Pr. Jacques François MAVOUNGOU pour m'avoir initié à l'entomologie. Un merci particulier à toutes les personnes qui, de prêt ou de loin, m'apportent leur soutien moral: Pr. Nestor ENGONE OBIANG, Pr. Alfred NGOMANDA, Dr. Joseph OKOUYI, Dr. Rosalie NGOUA, Dr. Rodrigue MINTSA, Mr Philippe MBEHANG NGUEMA, Mr Karl HENGA BOTSIKA, Mr Ghislain EBANG ELLA, Mr Cynel MOUNDOUNGA, Mr Quentin MOUNDOUNGA et Mr Franck KOSSI DITSOUGA.

Merci au Dr. Jean-Fabrice YALA du département de biologie de l'USTM pour m'avoir facilité l'obtention d'heures d'enseignement. Je remercie également Dr. Christiane ATTEKE, Directrice des relations extérieures de l'USTM, pour son implication lors de notre collaboration institutionnelle.

Merci à l'ensemble du personnel du laboratoire Biogéosciences de l'Université de Bourgogne. Merci au Pr. Frank CÉZILLY de m'avoir accepté en M2 BOP il y a quelques années, et surtout pour m'avoir présenté au Pr. François BRETAGNOLLE. Merci au Dr. Rémi WATTIER pour ses conseils lors de mes alignements de séquences, merci également aux Dr. François-Xavier DECHAUME-MONCHARMONT et Dr. Karine MONCEAU pour leur assistance en statistiques. Merci à Alexandre BAUER pour sa disponibilité. Je remercie Mme Isabelle SANTACROCE pour sa bonne humeur lors des différentes démarches administratives.

Je remercie particulièrement: Mr Michel PRE, Mr Laurent DENIAU, Mr Arnaud MARTIN, Mme Christine MOINARD, Mme Monique SORNEAU et Mme Christelle FERRIGNO de l'ambassade de France et de l'Institut Français du Gabon. Merci à Mr Joseph INDJENDJE et à Mme Jeanne OGANDAGA de l'antenne AUF de Libreville.

Merci au Dr. Olivier SCARPA, Mr Dominique MOLL et Mr Eric CHATARD pour avoir tous les trois consacré leurs vacances à la collecte des mouches hématophages dans les parcs nationaux du Gabon.

Merci aux rapporteurs, Dr. Philippe SOLANO et Dr. Serge MORAND qui me font l'honneur d'évaluer ma thèse ainsi que les autres membres du Jury: Pr. Gérard DUVALLET, Pr. Loïc BOLLACHE, Dr. Marie-Jeanne PERROT MINNOT et mes deux encadrants. Merci au Dr. Philippe SOLANO pour les améliorations apportées au texte.

Un immense merci à ma compagne Dr. Emilie ARNOUX dont l'expérience et les conseils m'ont été d'une importance capitale.

Enfin, je remercie particulièrement toute ma famille pour leur soutien sans faille en toutes circonstances, comme toujours. Merci à mes parents, mes frères et sœurs. Un merci particulier à mon oncle Pr. Dieudonné MEYO ME-NKOGHE, probablement le seul membre de ma famille à comprendre réellement ce que j'ai vécu ces 4 dernières années.

**- RÉSUMÉS ET MOTS CLÉS -**

---

## RÉSUMÉ

Avec la mise en place des politiques de conservation des espèces sauvages, l'extension de l'urbanisation et l'accroissement des populations humaines, le contact homme-faune a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies. Par conséquent, le nombre de maladies d'origines zoonotiques a explosé avec six apparitions d'agents infectieux par an, dont 75% sont susceptibles d'être transmises par un vecteur. La plupart de ces maladies n'ayant pas encore de vaccins, les principales méthodes d'évitement sont basées sur les stratégies de lutte anti-vectorielle adaptées à l'écologie et au comportement alimentaire des vecteurs. Au Gabon, particulièrement dans les parcs nationaux, nous avons identifié six espèces de glossines (*Glossina palpalis palpalis*, *G. fuscipes fuscipes*, *G. fusca congolense*, *G. pallicera newsteadi*, *G. caliginea* et *G. tabaniformis*) vivant principalement en milieux forestiers, six espèces de stomoxes (*Stomoxys calcitrans*, *S. inornatus*, *S. niger niger*, *S. niger bilineatus*, *S. omega omega* et *S. transvittatus*) inféodées aux milieux ouverts types forêt secondaire, savane et villages. Nous avons également identifié six espèces de tabanides (*Ancala* sp., *Atylotus* sp., *Chrysops* sp., *Haematopota* sp., *Tabanus par* et *T. taeniola*), mais leur distribution n'était pas claire dans les milieux prospectés. Par ailleurs, nous constatons que ces mouches hématophages ont un régime alimentaire très diversifié, comprenant les mammifères terrestres et aquatiques, les reptiles et les oiseaux. Elles se nourrissent à 86% sur la faune, contre seulement 14% sur l'homme. Cependant, dans les milieux anthropisés les repas sanguins d'origine humaine sont très importants, notamment dans les villages (100%) et autour des camps de recherche implantés dans les parcs (24%). Ainsi en l'absence de faune dans le milieu, ces mouches hématophages se nourrissent sur l'homme. Comme 75% des maladies émergentes chez l'homme proviennent de la faune sauvage et que près de  $\frac{3}{4}$  d'entre elles circulent via le sang, elles sont donc susceptibles d'être détectées dans les repas sanguins de mouches hématophages. Cette technique d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage semble être un bon moyen d'identifier les agents infectieux à ADN (plasmodiums et trypanosomes), mais reste encore imprécise pour les agents infectieux à ARN (arbovirus).

**Mots-clés:** Mouches hématophages, Éco-distribution, Repas sanguins, Saisons climatiques, Échantillonnage non-invasif, Faune sauvage, Conservation, Activités humaines, Criblage de pathogènes, Parc nationaux, Gabon.

## ABSTRACT

The contact between human and wild fauna has considerably increased during these last decades due to the increase of human population size but also to conservation policies. As a consequence, the number of zoonotic diseases soared with a mean of six new infectious diseases per year, 75% of whom being vectorially transmitted. The way to avoid the human contamination by these emergent diseases is based on the efficient vector control resulting from a deep knowledge of the ecology and the feeding behavior of the different vector species. During our work, we have identified and characterized the ecology of 6 tsetse species (*Glossina palpalis palpalis*, *G. fuscipes fuscipes*, *G. fusca congolense*, *G. pallicera newsteadi*, *G. caliginea* and *G. tabaniformis*) that live in forests and 6 stomoxe species (*Stomoxys calcitrans*, *S. inornatus*, *S. niger niger*, *S. niger bilineatus*, *S. omega omega* and *S. transvittatus*) that live in and around (anthropized places) conservation areas. We have also identified 6 tabanid species (*Ancala sp.*, *Atylotus sp.*, *Chrysops sp.*, *Haematopota sp.*, *Tabanus par* and *T. taeniola*). The feeding ecology of the tsetse species have been studied through the determination of host extracted from blood meals in the insect caught with molecular techniques. These hematophagous insects had a diversified diet that was constituted of diverse mammal species but also reptiles and birds. The food intake results mostly from wild fauna (86%) and more rarely from humans (14%). However, in anthropised habitats (villages and research's camps within the parks), the blood intakes from human origin were important, in particular in the villages (100%), suggesting that without wild fauna the flies shift on human host. In the last part of our work, we tried to identify pathogens in the blood samples extracted from the tsetse species in order to test whether these species could be used as living sampling syringe of the wild fauna. This new proposed non-invasive sampling techniques allowed to detect the DNA of various infectious agents (plasmodiums and trypanosomes), but failed to detect the RNA of viruses (arbovirus) suggesting that this approach could be useful but need to be improved.

**Keywords:** Hematophagous flies, Eco-distribution, Blood meals, Climatic seasons, Non-invasive sampling, Wildlife, Conservation, Human activity, Pathogen screening, National parks, Gabon.



## TABLE DES MATIÈRES

I] Contexte général.....	1
II] Introduction générale.....	6
II.1] L'hématophagie.....	7
II.1.1] Définition .....	7
II.1.2] Apparition et évolution .....	7
II.1.2.a] Voie 1: association prolongée hôte-arthropode dans les gîtes.....	8
II.1.2.b] Voie 2: association prolongée hôte-arthropode hors des gîtes.....	8
II.1.3] Adaptations.....	9
II.1.3.a] Adaptations morphologiques.....	9
II.1.3.b] Adaptations physiologiques.....	10
II.1.3.c] Adaptations comportementales.....	10
II.2] Maladies parasitaires.....	11
II.2.1] La leishmaniose.....	12
II.2.2] Le paludisme.....	12
II.2.3] La trypanosomiase humaine/animale africaine (THA/TAA).....	13
II.2.4] Effets du changement climatique.....	13
II.3] Maladies émergentes.....	15
II.3.1] Définition .....	15
II.3.2] Histoire des maladies émergentes.....	15
II.3.3] Impacts et propagation des maladies émergentes.....	19
III] Présentation des modèles biologiques et sites d'études.....	25
III.1] Présentation des modèles biologiques de l'étude.....	26
III.1.1] Glossines.....	26
III.1.1.a] Description.....	26
III.1.1.b] Classification.....	27
III.1.1.c] Répartition géographique.....	27

III.1.1.d] Ecologie.....	29
III.1.1.e] Cycle biologique.....	30
III.1.1.f] Régime alimentaire.....	31
III.1.1.g] Impact vectoriel.....	34
III.1.2] Stomoxes.....	36
III.1.2.a] Description.....	36
III.1.2.b] Classification.....	36
III.1.2.c] Répartition géographique.....	36
III.1.2.d] Ecologie.....	37
III.1.2.e] Cycle biologique.....	38
III.1.2.f] Régime alimentaire.....	39
III.1.2.g] Impact vectoriel.....	40
III.1.3] Tabanides.....	41
III.1.3.a] Description.....	41
III.1.3.b] Classification.....	42
III.1.3.c] Répartition géographique.....	42
III.1.3.d] Ecologie.....	43
III.1.3.e] Cycle biologique.....	44
III.1.3.f] Régime alimentaire.....	45
III.1.3.g] Impact vectoriel.....	46
III.2] Présentation des sites d'études.....	47
III.2.1] Le Gabon.....	47
III.2.1.a] Principales formations végétales.....	48
III.2.1.b] Reliefs et saisons climatiques.....	49
III.2.2] Les parcs du Gabon.....	50
III.2.2.a] Parc national de l'Ivindo (PNI).....	51
III.2.2.b] Parc national de Moukalaba-Doudou (PNMD).....	51

III.2.2.c] Parc national de la Lopé (PNL).....	52
III.2.2.d] Parc de la Lékédi (PL).....	52
III.3] Objectif général et objectifs spécifiques.....	53
III.3.1] Objectif général.....	53
III.3.2] Objectifs spécifiques.....	55
III.3.2.a] Ecologie et abondance des mouches hématophages.....	55
III.3.2.b] Ecologie alimentaire des mouches hématophages.....	55
III.3.2.c] Criblage des agents infectieux à partir des repas sanguins.....	56
III.4] Matériels et méthodes.....	57
III.4.1] Piège Vavoua.....	58
III.4.2] Piège Nzi.....	59
III.4.3] Piège humain.....	60
III.4.4] Substances olfactives.....	61
III.4.5] Méthodes de biologie moléculaire.....	62
IV] Chapitre I.....	64
IV.1] Introduction générale du chapitre I.....	65
IV.2] Présentation du chapitre I sous-forme d'Article.....	66
IV.3] Synthèse des principaux résultats du chapitre I.....	77
V] Chapitre II.....	80
V.1] Introduction générale du chapitre II.....	81
V.2] Présentation du chapitre II sous-forme d'Article.....	82
V.3] Synthèse des principaux résultats du chapitre II.....	104
VI] Chapitre III.....	108
VI.1] Introduction générale du chapitre III.....	109
VI.2] Présentation du chapitre III sous-forme d'Article.....	110

VI.3] Synthèse des principaux résultats du chapitre III.....	138
VII] Discussion générale, conclusion et perspectives.....	144
VII.1] Discussion générale.....	145
VII.2] Conclusions.....	157
VII.3] Perspectives.....	158
VIII] Références bibliographiques.....	160

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

<b>Figures.....</b>	<b>26</b>
Figure 1: Exemple de glossine ( <i>Glossina palpalis</i> ).....	26
Figure 2: Classification des glossines, extrait du CD « Les Glossines ou mouches tsé-tsé » (logiciel d'identification et d'enseignement, ORSTOM/CIRAD).....	27
Figure 3: Répartition géographique des glossines, carte extraite du CD « Les Glossines ou mouches tsé-tsé » (logiciel d'identification et d'enseignement, ORSTOM/CIRAD).....	28
Figure 4: Cycle biologique d'une glossine, d'après D. Cuisance 1989.....	30
Figure 5: Illustration de la répartition de la trypanosomiase humaine africaine (THA) en Afrique sub-saharienne. Cartes remodifiées à partir des cartes issues du rapport publié par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1989 sur la maladie du sommeil.....	34
Figure 6: Exemple de stomoxe ( <i>Stomoxys calcitrans</i> ).....	36
Figure 7: Distribution des stomoxes dans le monde, avec une distribution cosmopolite de <i>Stomoxys calcitrans</i> , d'après N. Dsouli 2009.....	37
Figure 8: Cycle biologique d'un stomoxe, avec les 6 différents stades : 1 stade œuf, 3 stades larvaires, 1 pupaison et 1 stade adulte.....	38
Figure 9: Exemple de tabanide ( <i>Tabanus sp.</i> ).....	41
Figure 10: Répartition des espèces de tabanides d'intérêt médical, vétérinaire et économique dans le monde.....	43
Figure 11: Cycle biologique d'un tabanide, avec les différents stades: stade œuf, stade larvaire, pupaison et stade adulte.....	44
Figure 12: Situation géographique du Gabon.....	47
Figure 13: Les principales formations végétales du Gabon.....	48
Figure 14: Carte géologique du Gabon.....	49

Figure 15: Carte des 13 parcs nationaux du Gabon.....	50
Figure 16: Cycle de transmission d'une maladie vectorielle.....	54
Figure 17: Piège Vavoua.....	58
Figure 18: Piège Nzi.....	59
Figure 19: Piège humain.....	60
Figure 20: La diversité d'hôtes vertébrés retrouvés dans les repas sanguins de glossines dans les parcs de Moukalaba-Doudou, de Lopé et de la Lékédi au Gabon.....	104
Figure 21: Box plots des densités apparentes (DAP) des différentes espèces de mouches hématophages capturées en fonction des saisons climatiques.....	139
Figure 22: Nombre de plasmodiums (a) et trypanosomes (b) détectés par hôte vertébré selon les parcs et les saisons climatiques.....	142

**I- CONTEXTE GÉNÉRAL -**

---

Les maladies à transmission vectorielle, c'est-à-dire dont la transmission d'un hôte à un autre dépend d'un vecteur arthropode, représentent près de 20% des maladies infectieuses et parasitaires, et figurent parmi les plus importantes préoccupations en matière de santé publique dans le monde aussi bien par la morbidité que par la mortalité qu'elles entraînent, principalement dans les pays tropicaux (Guernier et al., 2004; Jones et al., 2008). En Afrique sub-saharienne par exemple, les maladies parasitaires telles que la trypanosomiase humaine/animale africaine (THA/TAA) et le paludisme constituent à elles deux les principales causes et conséquences du sous-développement (WHO, 2004). Leur impact sanitaire sur les populations adultes constitue un handicap pour l'éducation des enfants et freine par la même occasion le développement économique des pays. Selon l'organisation de coopération et de développement économique (OCDE), les coûts directs et indirects engendrés par le paludisme en Afrique seraient au minimum de l'ordre de 10 milliards de dollars par an, créant chaque année un déficit économique de 1.3% sur le continent. Réussir à contrôler ces maladies est donc un enjeu majeur de santé publique et d'économie. Cependant, ce contrôle nécessite une bonne compréhension des aspects épidémiologiques et des mécanismes de transmission des agents infectieux. Les maladies à transmission vectorielle étant, la plupart du temps, transmises par des arthropodes hématophages, cela revient dans un premier temps à caractériser la biologie et l'écologie des vecteurs puis d'analyser leur comportement hématophage vis-à-vis de la diversité de la faune sauvage et domestique, souvent réservoirs des agents pathogènes. Il existe deux types de transmission vectorielle: la transmission biologique et la transmission mécanique. La transmission biologique se produit lorsque l'agent pathogène est absorbé par le vecteur et accomplit un cycle de développement chez ce dernier. Ce n'est qu'une fois le cycle achevé que l'agent pathogène peut être inoculé à un nouvel hôte, le vecteur est alors dit infectant. C'est généralement cette forme de transmission dont il est question lorsqu'on parle de transmission vectorielle. En revanche, la transmission mécanique a lieu lorsque le vecteur transporte tout simplement les germes sur ses pièces buccales, dans son jabot pour les mouches hématophages, sur ses pattes ou sur son corps et les dépose ou les inocule ensuite à un nouvel hôte sans qu'il y ait évolution du cycle biologique du germe. Cette forme de transmission s'applique aussi aux cas de contaminations d'un milieu ou d'un aliment par le transporteur passif sans qu'il y ait interaction directe avec l'hôte qui sera infecté par la suite en rentrant en contact avec le milieu ou l'aliment contaminé.



Dans le cas des trypanosomes responsables de la forme humaine (THA) et de la forme animale (TAA) de la maladie du sommeil, la transmission biologique est assurée par les glossines. Mais d'autres mouches hématophages comme les stomoxes et les tabanides peuvent être également impliquées dans la transmission mécanique des trypanosomes (Mihok et al., 1995; D'Amico et al., 1996; Desquesnes & Davila, 2002; Desquesnes & Dia, 2004; Baldacchino et al., 2014; Rodriguez et al., 2014). Glossines, stomoxes et tabanides abondent au Gabon, particulièrement dans les parcs nationaux (Mavoungou et al., 2008a; 2012; Zinga et al., 2013; Bitome Essono et al., 2015). Certains de ces parcs nationaux ont été créés dans et autour des provinces où la maladie du sommeil a historiquement sévit. De plus, les quelques campagnes de dépistage menées par le Programme National de Lutte contre la Trypanosomiase (PNLT) ont révélé la persistance du parasite dans certains anciens foyers, même si les taux d'infection restent relativement faibles (Kohagne et al., 2010; 2011). La biologie et la phénologie de ces espèces hématophages sont encore mal connues en Afrique Centrale et mieux comprendre certains aspects de la biologie de ces insectes permettrait d'élaborer des stratégies de gestion plus optimisées de certaines maladies à transmission vectorielle. Par ailleurs, une connaissance beaucoup plus approfondie des différents hôtes nourriciers choisis par ces vecteurs reste aussi une condition majeure pour la réussite des programmes de lutte anti-vectorielle et le contrôle de la maladie. En particulier, un point crucial pour comprendre la dynamique des maladies à transmission vectorielle, et au-delà, des maladies émergentes, concerne la détermination de réservoirs potentiels au sein de la faune sauvage. En effet, le rôle réservoir joué par la faune sauvage et les animaux domestiques dans le maintien et parfois dans la réactivation ou la recrudescence des anciens foyers de THA a été rapporté par de nombreux travaux (Van-Hoof, 1947; Heisch et al., 1958; Molyneux, 1973; Gibson et al., 1978; Mehlitz et al., 1982). Malgré tout, la plupart des études s'intéressant à ce sujet en Afrique Centrale (Herder et al., 2002; Njiokou et al., 2004; 2006; Kohagne et al., 2010) ont toutes quasiment eu lieu autour des villages autrefois théâtres de la maladie. Dans cette région, les habitudes alimentaires des mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) ont très peu été rapportées en milieu naturel (Mavoungou et al. 2008b). Avec la création des parcs nationaux, la mise en pratique des interdictions de chasse, la prolifération des animaux sauvages et probablement le développement de l'écotourisme, le contact homme-faune sera davantage prolongé et peut s'accompagner des échanges

d'agents infectieux en présence de vecteurs (Epstein et al., 1993; Taylor et al., 2001; Wolfe et al., 2005). Mieux connaître les différents hôtes nourriciers des vecteurs permet de cerner un éventuel schéma de transmission biologique ou mécanique des agents pathogènes.

Par ailleurs, au-delà du simple risque de transmission de maladies parasitaires, les maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes à l'homme et à la faune sont en augmentation alarmante ces dernières décennies, avec des conséquences néfastes pour la santé publique et la biodiversité (Chapman & Peres, 2001; Piot et al., 2004; Bermejo et al., 2006). Si les conséquences de santé publique peuvent paraître évidentes (fièvre hémorragique Ebola, virus du Nil occidental, virus Nipah, syndrome respiratoire aigüe sévère, etc.), le déclin de la biodiversité actuel lié aux infections des maladies émergentes pourra avoir des conséquences considérables et irréversibles sur la régénération des communautés écologiques des écosystèmes. Entre 1940 et 2004, environ 335 agents pathogènes à l'homme ont émergé (Jones et al., 2008) avec un gradient croissant d'agents infectieux plus on s'approche de l'équateur (Guernier et al., 2004). Et les scientifiques s'accordent à dire que près de 60% de ces agents pathogènes sont agents de zoonoses, dont 75% proviennent de la faune sauvage (Taylor et al., 2001; AbuBakar et al., 2004; Jones et al., 2008). En effet, il est maintenant bien connu que plusieurs maladies infectieuses et parasitaires humaines puisent leur origine dans la faune sauvage. Le VIH a évolué à partir d'un virus de Chimpanzé, Ebola est d'origine zoonotique et les singes sont réservoirs de plusieurs arbovirus dont la fièvre jaune qui sévit en Afrique sub-saharienne et en Amérique latine (Monath, 2001; Engel et al., 2002). Parmi les maladies ou agents pathogènes pouvant être transmis des primates sauvages à l'homme, on peut noter la tuberculose (Michel & Huchzermeyer, 1998), les *Plasmodiums spp.* (Thoisy et al., 2001) et *Trypanosoma cruzi* (Sousa et al., 1974) responsable de la maladie de Chagas. Les immenses coûts socio-économiques que génèrent ces maladies infectieuses et parasitaires sur l'économie mondiale représentent un lourd fardeau pour l'humanité (Binder et al., 1999; Morens et al., 2004; Piot et al., 2004) et accentue davantage la nécessité de comprendre leur écologie. Une telle compréhension passe par le développement de nouvelles techniques de détection et de surveillance des agents pathogènes au sein de la faune sauvage. Ceci est particulièrement problématique lorsque cela concerne des espèces sauvages emblématiques, telles que les primates, les éléphants ou les grands herbivores, qui ont des statuts de protection intégrale et dont les

principales populations sont maintenant cantonnées dans des zones de conservation et pour lesquelles les prélèvements non-invasifs sont donc les seuls moyens de prélèvement envisageables.

L'utilisation des techniques d'échantillonnage non-invasif issues de la biologie moléculaire pour l'identification et le suivi individuel d'animaux sauvages s'est largement développée ces deux dernières décennies. Elle s'est appliquée à divers taxons comme les ours (Wood et al., 1999), les éléphants d'Afrique (Egger et al., 2003), les carnivores (Kohn et al., 1999), les baleines à bosses (Palsboll et al., 1997) et les tortues (Pearse et al., 2001). Jusqu'à récemment, le principe consistait à récupérer des poils, des plumes, des excréments ou autres tissus permettant de prélever de l'ADN (Taberlet et al., 1999). Mais depuis peu, ce sont des repas sanguins d'arthropodes hématophages qui sont utilisés pour l'identification et le suivi de la biodiversité (Kent, 2009; Muturi et al., 2011; Schnell et al., 2012). Contrairement à d'autres arthropodes hématophages (tiques, sangsues, moustiques, etc.), les mouches hématophages et plus particulièrement les glossines ont la particularité d'être omniprésentes dans la plupart des milieux sauvages, d'être opportunistes sur le plan alimentaire et surtout d'être souvent capturées gorgées de repas sanguins. Près de 20 à 40% de glossines capturées dans des pièges visuels possèdent un repas sanguin (Gouteux et al., 1984; Simo et al., 2012a). C'est pour ces principales raisons que nous avons tenté d'utiliser ces mouches hématophages comme des sortes de seringues vivantes pour l'échantillonnage non-invasif des agents infectieux circulant dans la faune sauvage. Si nous considérons que le comportement hématophage est en majeure partie responsable du problème de transmission d'agents infectieux, nous pouvons également tenter d'en faire une partie de la solution.

C'est dans toutes ces perspectives de caractérisation des mouches hématophages dans les parcs nationaux du Gabon, de connaissance de leurs habitudes alimentaires et de développement d'une technique d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage que s'inscrivent les travaux de cette thèse.

## **II- INTRODUCTION GÉNÉRALE -**

---

## II.1] L'HÉMATOPHAGIE

### II.1.1] Définition

L'hématophagie est un terme qui désigne l'habitude qu'ont certains animaux vertébrés et invertébrés à se nourrir de sang d'autres animaux, principalement vertébrés. Ce comportement, majoritairement associé aux arthropodes ectoparasites (puces, poux, tiques, etc.) ou à d'autres (moustiques, mouches, etc.), s'observe également chez des vertébrés comme les chauves-souris de la sous-famille des Desmodontinae, communément qualifiées de vampires et dont 3 espèces (*Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* et *Diaemus youngi*) se nourrissent de sang de vertébrés en Amérique latine. Le comportement hématophage concerne environ 15 000 espèces d'arthropodes réparties dans 400 genres (Mans et al., 2002), dont 2 à 3% sont des vecteurs d'agents de maladies humaines et animales (Ribeiro, 1995).

### II.1.2] Apparition et évolution

L'hématophagie est un comportement alimentaire qui a évolué cinq à six fois de façon indépendante (Balashov, 1984; Ribeiro, 1995). Ces auteurs pensent que ce comportement serait apparu pour la première fois chez les arthropodes entre les périodes du Jurassique et du Crétacé, il y a environ 145-65 millions d'années. Cependant, les extinctions massives des espèces qui ont marqué ces périodes géologiques, ainsi que les tailles souvent très petites des individus, réduisent les chances de retrouver des fossiles des premiers arthropodes hématophages. Comprendre l'apparition et l'évolution de ce mode d'alimentation a longtemps relevé d'un travail de détective, avec pour principaux indices la diversité et l'écologie des espèces hématophages actuelles; et dans certains cas, dans les détails de leurs interactions parfois très étroites avec les vertébrés. Avec l'avènement de la biologie moléculaire, les phylogénies moléculaires permettent de faire des hypothèses sur les processus évolutifs et leur chronologie ayant conduit à l'émergence de l'hématophagie.

L'évolution du comportement hématophage chez les premiers arthropodes, a eu lieu à plusieurs reprises au cours du temps. L'évolution d'un tel comportement a vraisemblablement nécessité une phase d'association hôte-arthropode prolongée (Waage, 1979), et deux hypothèses principales ont été formulées pour expliquer l'émergence de ce comportement trophique.

### II.1.2.a] Voie 1: association prolongée hôte-arthropode dans le gîte de l'hôte

Cette première voie suggère que le comportement hématophage peut avoir été développé pour la première fois chez les arthropodes à la suite d'une association prolongée avec des vertébrés se reproduisant dans des gîtes. Les invertébrés peuvent avoir été attirés vers ces gîtes de reproduction pour diverses raisons: (i) l'environnement chaud et humide de cette époque aurait été favorable au développement d'un grand nombre d'arthropodes, engendrant ainsi une concurrence pour l'accès à la ressource; (ii) dans les zones semi-arides ou arides, l'habitat protégé qu'offrait le nid ou le terrier peut avoir été essentiel pour la survie de ces arthropodes; (iii) ces arthropodes auraient été attirés par la matière organique résultant des excréments d'oiseaux ou autres mammifères afin de l'utiliser comme ressource alimentaire (Mockfort, 1967; 1971).

Dans ces environnements confinés, ces arthropodes qui se nourrissaient d'excréments de vertébrés, de champignons ou de débris organiques d'autres insectes, auraient été au contact fréquent et prolongé de quantités considérables de mues (peaux, plumes, poils, etc.). L'ingestion accidentelle et prolongée du sang sur ces revêtements mués a vraisemblablement conduit à la sélection des individus possédant des systèmes physiologiques capables d'utiliser efficacement ce nouveau type d'aliment. De plus, le sang constituant un aliment facile à digérer, qui augmente la fécondité des femelles chez les insectes (Marshall, 1981), présentait ainsi tous les atouts pour être sélectionné comme mode d'alimentation.

### II.1.2.b] Voie 2: association prolongée hôte-arthropode hors des gîtes

L'association prolongée des arthropodes avec les hôtes vertébrés, ne se serait pas uniquement produite dans l'habitat des vertébrés. Cette habitude alimentaire peut également résulter d'une proximité prolongée des deux protagonistes à un point éloigné des gîtes de reproduction. Ce type d'association peut avoir eu lieu pour plusieurs raisons sous-jacentes: (i) les arthropodes auraient été attirés par des sécrétions corporelles des vertébrés; (ii) ils auraient voulu utiliser l'hôte vertébré comme site d'essaimage; (iii) la raison qui a sans doute prolongé cette association est l'utilisation de fèces ou fiente des vertébrés comme habitats larvaires (Pearman, 1960). Là encore, la compétition entre arthropodes pour l'utilisation de cette ressource a vraisemblablement conduit certains à

une association encore plus étroite avec leur hôte. Pour être donc la première à déposer ses œufs ou larves dans les fèces, la femelle d'arthropodes a développé des associations toujours plus étroites avec le vertébré fournissant la ressource. C'est exactement ce qui explique que chez les Muscidae, particulièrement chez l'espèce *Haematobia irritans*, les femelles déposent leurs œufs environ 15 secondes après l'excrétion des fèces par un animal (Mohr, 1943). Le fait que ces arthropodes minimisent fortement leur temps de recherche de nourriture pour maximiser leur succès reproducteur a probablement conduit les premières femelles d'arthropodes hématophages à se nourrir des sécrétions corporelles de vertébrés (sueur, urine, etc.), puis sur les blessures fraîches et plaies ouvertes. Ceci pourrait laisser penser que chez les arthropodes hématophages, les femelles ayant adopté ce comportement alimentaire ont maximisé leur succès reproducteur, et ce, bien avant les mâles pour lesquels cette étroite association n'a pas le même avantage. Cela pourrait expliquer pourquoi, chez les tabanides (Diptera: Tabanidae) les mâles ne sont pas hématophages (Mullens, 2002). De même, chez les stomoxes (Diptera: Muscidae), bien que les deux sexes soient hématophages, le mâle peut se nourrir du nectar (Wall & Shearer, 1997). Et enfin chez le moustique *Anopheles gambiae*, principal vecteur du paludisme, seules les femelles sont hématophages et donc vecteurs des plasmodiums.

### II.1.3] Adaptations

L'évolution du comportement hématophage requiert plusieurs évolutions d'ordre morphologiques, physiologiques et comportementales.

#### II.1.3.a] Adaptations morphologiques

Plusieurs évolutions morphologiques se sont produites chez les arthropodes devenus hématophages, mais celles subies par les pièces buccales ont dû être déterminantes pour s'adapter à ce nouveau mode d'alimentation. La peau des vertébrés comprend 3 couches: l'épiderme à l'extérieur, l'hypoderme à l'intérieur et entre les deux le derme qui est un tissu vasculaire que tout arthropode hématophage doit pouvoir transpercer pour accéder à un repas sanguin. Les pièces buccales avec lesquelles les arthropodes se nourrissaient d'excréments, champignons, débris organiques d'autres insectes, puis mues de vertébrés, étaient très probablement de type mâcheur ou broyeur telles qu'on les observe encore de nos jours chez certains ordres comme les Mallophaga (Emmerson

et al., 1973). Le besoin incessant de repas sanguins va favoriser l'évolution progressive de ces pièces buccales vers un type piqueur-suceur, plus adapté à la prise des repas sur les hôtes vertébrés (Bergman, 1996).

#### II.1.3.b] Adaptations physiologiques

Les arthropodes hématophages pompent du sang de leurs hôtes grâce à leurs pièces buccales de type piqueur-suceur, bien adaptées. Ils transpercent alors la peau de l'hôte vertébré, puis ils prennent leur repas soit à partir des gouttes de sang qui se forme sur la surface de la peau, ou à partir d'un hématome formé sous la surface de la peau, ou parfois directement à partir d'un vaisseau sanguin. Il est d'une importance vitale pour l'insecte que le sang reste sous forme liquide jusqu'à la fin de son repas. S'il venait à se produire une coagulation du sang à la suite de la percée de la peau par les pièces buccales, phénomène appelé hémostase (Colman, 2001), non seulement l'arthropode hématophage serait incapable de terminer son repas, mais ses pièces buccales pourraient également se bloquer dans le caillot sanguin formé. Pour éviter ce type d'incident et assurer le succès de leurs repas, les arthropodes ont progressivement développé une série de mécanismes pour lutter contre ce phénomène. En effet l'arthropode injecte à l'hôte à travers ses sécrétions salivaires des anticoagulants, des antiplaquettaires et des substances vasodilatatrices. Toutes ces substances salivaires ont pour but respectif de garder le sang fluide, d'inhiber l'agrégation des plaquettes sanguines et de garder les vaisseaux sanguins dilatés pour une meilleure circulation sanguine (Colman, 2001).

#### II.1.3.c] Adaptations comportementales

Les arthropodes hématophages se nourrissent sur une gamme d'hôtes assez large et diversifiée, constituée de mammifères terrestres et aquatiques, de reptiles, d'oiseaux et même d'autres arthropodes non hématophages comme les Arachnides et Annélides (Weitz, 1963; Hocking, 1971; Clausen et al., 1998; Simo et al., 2008). Cependant, toutes les espèces d'arthropodes hématophages ne se nourrissent pas sur l'ensemble d'hôtes potentiels, elles affichent un choix. Ce choix résulte du rapport avantageux entre la disponibilité de l'hôte et le bénéfice nutritif, et va entraîner chez les arthropodes hématophages une certaine adaptation comportementale par rapport aux activités des hôtes. La mouche tsétsé, *Glossina palpalis palpalis* par exemple, fortement impliquée



dans la transmission de la maladie du sommeil au Gabon (Kohagne et al., 2010; 2011), va être plus active entre 11h et 16h (Kaminsky, 1987) correspondant au pic journalier d'activité humaine (pêche, agriculture, élevage, lessive, etc.). Le comportement alimentaire d'un arthropode hématophage peut également dépendre de contraintes écologiques et évolutives que peuvent lui imposer la dynamique et la transmission des parasites dont il est vecteur (Kelly, 2001; Bataille et al., 2012). Ainsi, le moustique (*Culex pipiens*) par exemple, principal vecteur du virus du Nil occidental en Amérique du Nord, va avoir une forte préférence pour le merle d'Amérique (*Turdus migratorius*), réservoir du parasite (Kilpatrick et al., 2006).

Les piqûres, souvent douloureuses des arthropodes hématophages ont tendance à entraîner une réaction défensive et souvent létale de l'hôte. Pour leur survie, certains arthropodes hématophages ont progressivement ciblé les hôtes les moins réactifs et les zones d'attaque les moins risquées. Plusieurs études montrent, par exemple, que les glossines vont préférentiellement se nourrir sur les bovins adultes plutôt que sur les jeunes veaux et qu'elles vont essentiellement s'attaquer aux pattes (Torr & Hargrove, 1998; Schofield & Torr, 2002), même si certaines espèces comme *Glossina palpalis* et *G. tachinoïdes* ont été rapportées se nourrir à 75-85% sur des parties hautes du corps (Nash, 1948). Ce sont autant des comportements qui peuvent laisser supposer que certains arthropodes hématophages sont capables d'adapter leur site d'attaque, l'espèce d'hôte et sa condition physique afin de minimiser son efficacité défensive et maximiser leurs chances de faire un repas complet.

Ce comportement trophique joue un rôle considérable dans la transmission intra et interspécifique des agents pathogènes, dans le maintien, la réactivation et parfois la propagation de certaines maladies infectieuses et parasitaires qui en résultent.

## **II.2] MALADIES PARASITAIRES**

Avec la leishmaniose, le paludisme et la trypanosomiase humaine africaine (THA) constituent sans doute les maladies parasitaires les plus connues et les plus répandues en zones tropicales. Leur transmission est biologiquement assurée par des arthropodes hématophages, en l'occurrence les phlébotomes pour la transmission de la leishmaniose (Haouas et al., 2007); les moustiques du genre *Anophèles* pour la transmission du

paludisme (Scott et al., 2006; Kent et al., 2007) et les glossines pour la transmission de la THA (Steuber et al., 2005).

### II.2.1] La leishmaniose

Les leishmanioses constituent un groupe de maladies dues à différentes espèces de protozoaires du genre *Leishmania*, transmise par les phlébotomes. Cette maladie dont le diagnostic est complexe, se manifeste sous diverses formes cliniques et ne présente actuellement pas de vaccination commercialisée en Afrique sub-saharienne, ni de traitement efficace. Ce sont des zoonoses hébergées par les chiens et dont la proximité avec l'homme peut faciliter la transmission vectorielle de l'agent pathogène.

### II.2.2] Le paludisme

Le paludisme demeure la maladie à transmission vectorielle la plus répandue et la plus meurtrière du monde. Il est endémique dans 109 pays et près de 3.5 milliards de personnes (soit 50% de la population mondiale) sont exposées à cette maladie, en particulier en Afrique et dans le sud-est asiatique. Cette parasitose a disparu des régions tempérées depuis le début du XXème pour se concentrer à la seule région tropicale où les conditions climatiques sont particulièrement favorables au développement du vecteur (moustique *Anophèles*). Des cinq espèces du genre *Plasmodium* qui infectent l'homme (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. knowlesi*), *P. falciparum* est de loin la forme la plus répandue et la plus mortelle (Greenwood et al., 2005; Snow et al., 2005) avec près de 3 millions de morts par an (Volkman et al., 2001), principalement des enfants de moins de 5 ans et des femmes enceintes (WHO, 1996; Lopez et al., 2006; WHO, 2006). Malgré les efforts persistants mis en place depuis la fin des années 50 pour contrôler la maladie, elle réapparaît fréquemment dans différentes parties du monde (Aramburu et al., 1999; Faulde et al., 2007), et même parfois à des endroits où elle a été éradiquée autrefois. *Plasmodium falciparum* pouvant être hébergé par les primates sauvages (Ollomo et al., 2009; Prugnolle et al., 2010; 2011), sa détection et sa surveillance au sein du réservoir animal est largement nécessaire pour tenter de prédire ces éventuelles apparitions et réapparitions dans différentes régions où sévit la maladie et où les conditions climatiques pourraient devenir propices au développement du vecteur.

### II.2.3] La trypanosomiase humaine/animale africaine (THA/TAA)

Vieille de plusieurs siècles, la maladie du sommeil est une maladie parasitaire avec de nombreux foyers endémiques en Afrique sub-saharienne. L'agent pathogène est un trypanosome appartenant au complexe *Trypanosoma brucei*, subdivisé en trois sous espèces: *Trypanosoma brucei gambiense*, responsable de la forme humaine chronique de la maladie qui sévit dans 24 pays d'Afrique Occidentale et Centrale (Hoare, 1972; Kennedy, 2008); *T. brucei rhodesiense*, responsable de la forme humaine aiguë qui sévit dans 13 pays d'Afrique Orientale (Welburn et al., 2009) et *T. brucei brucei*, qui est responsable d'une des formes animales de la maladie. La THA touche un grand nombre de personnes avec plus de 60 millions de personnes qui y sont quotidiennement exposées (Moore & Richer, 2001; Simarro et al., 2011; Simo et al., 2012a). Dans les années 1920, la maladie a été si virulente et meurtrière que la lutte anti-vectorielle fut une priorité des colonisateurs en Afrique. Au début des années 60, la maladie semblait avoir complètement disparu du continent, mais le fléchissement des efforts de lutte ont entraîné sa recrudescence au début des années 80.

La transmission des différents trypanosomes est principalement assurée par les glossines, mais les stomoxes et les tabanides peuvent également en assurer la transmission mécanique (Mihok et al., 1995; D'Amico et al., 1996; Desquesnes & Davila, 2002; Desquesnes & Dia, 2004; Baldacchino et al., 2014; Rodriguez et al., 2014). Le contrôle de cette maladie parasitaire dans un milieu passe nécessairement par l'identification des différents vecteurs et la caractérisation de leur écologie.

### II.2.4] Effets du changement climatique

L'augmentation progressive des températures que connaît notre planète actuellement peut s'accompagner de modifications écologiques dans certaines régions, pouvant favoriser l'apparition de certaines espèces de vecteurs et d'agents pathogènes jusque-là absentes. Ainsi, une étude récente portant sur l'effet du changement climatique sur l'évolution de la trypanosomiase humaine africaine (THA) vient de prédire que 46 à 77 millions de personnes supplémentaires seront exposées à la maladie d'ici 2090 (Moore et al., 2012).

Il est possible que l'augmentation de la température ait par ailleurs un effet négatif sur la dynamique des vecteurs. En effet, les températures supérieures à 35°C ralentissent

généralement le développement larvaire des vecteurs et diminuent la survie des parasites (Rueda et al., 1990). C'est le cas des glossines dont la nymphose nécessite des températures comprises entre 23 et 25°C, une hygrométrie relativement élevée (75-90%) et une végétation ombragée (Laveissière & Hervouët, 1981; Ndegwa et al., 1992; Courtin et al., 2010). Les stomoxes, vecteurs biologiques et mécaniques de divers agents pathogènes (Leclercq, 1971; Foil & Gorham, 2000; Baldacchino et al., 2013a), nécessitent aussi des températures comprises entre 30 et 35°C pour le développement de leurs larves (Lysyk, 1998; Sutherland, 1979). En revanche, les températures plus élevées entraînent une déshydratation plus rapide des vecteurs, accélérant la digestion des repas sanguins et augmentant la fréquence des prises alimentaires; et de ce fait le risque de transmission de pathogènes (Terblanche et al., 2008). L'augmentation de températures due aux changements climatiques peut donc avoir un effet contrasté sur la transmission des maladies vectorielles. Moore et ses collaborateurs (2012) pensent donc qu'il existerait une température qui favoriserait un équilibre optimal entre le développement des populations de vecteurs et le taux de transmission des agents infectieux, plus particulièrement pour les trypanosomes.

Suite au réchauffement climatique, un rapport de la banque mondiale publié le 9 novembre 2015, estime que 150 000 personnes supplémentaires seront exposées au paludisme d'ici 2030. En effet, une extension du paludisme a déjà été observée dans des zones nouvelles comme l'Afrique du Sud au milieu des années 90 (Le Sueur et al., 1996), et depuis quelques années des réapparitions s'observent dans des zones comme le Kenya (Shanks et al., 1999), la Grèce et l'Italie (Boccolini et al., 2012) où la maladie a été éradiquée autrefois. Dans un rapport publié par la délégation sénatoriale française à la prospective, lors de la session extraordinaire de 2011-2012, sur les nouvelles menaces des maladies infectieuses émergentes les auteurs mentionnent que l'augmentation actuelle des échanges internationaux fait que tout médecin exerçant en France métropolitaine peut être confronté au paludisme dans sa pratique quotidienne. Selon eux, chaque année près de 20 personnes meurent de paludisme en France métropolitaine, et environ 4600 cas d'infections plasmodiales ont été diagnostiqués sur la seule année de 2010. Il suffirait juste que les modifications climatiques favorisent le développement du vecteur pour que le pays connaisse les mêmes risques que ses voisins grecs et italiens. Tout ceci nous montre une fois de plus la nécessité de contrôler ces agents pathogènes et leurs vecteurs.

## II.3] MALADIES ÉMERGENTES

### II.3.1] Définition

Une maladie émergente est une maladie dont l'incidence réelle a augmenté de façon significative dans une population donnée, et/ou la gamme d'hôtes s'est diversifiée et dont la distribution géographique est en expansion (Daszak et al., 2000; Wilcox & Gubler, 2005). C'est le cas par exemple de la fièvre hémorragique Ebola dont l'incidence réelle a fortement augmenté depuis la première détection du virus en 1976 (Pattyn et al., 1977), avec une diversification d'hôtes comprenant les chauves-souris, les grands singes et les humains (Leroy et al., 2004; 2005; Bermejo et al., 2006) et une portée géographique qui s'étend d'avantage (Briand et al., 2014; Chan, 2014; Pigott et al., 2014). Cela a également été le cas du virus du Nil occidental, qui a réémergé chez les oiseaux aux USA en 1999, et a été transmis à l'homme. A cette époque, il a infecté plus de 1400 personnes et tué 500 autres (CDC, 2003) avant de connaître une diffusion si rapide et si large qu'il est aujourd'hui l'arbovirus le plus répandu au monde (Kramer et al., 2008). Le virus Nipah survenu en 1998 en Malaisie, le syndrome respiratoire aiguë sévère (SRAS) survenu en Chine en 2002 et la grippe aviaire hautement pathogène survenue en Thaïlande en 2003 connaîtront tous les trois le même essor (Kuiken et al., 2005; Kramer et al., 2008). Une maladie émergente peut être une maladie connue qui réapparaît dans un milieu ou ailleurs, parfois sous une nouvelle forme plus virulente, avec des agents infectieux résistants aux traitements de la précédente forme; on parle de réémergence.

L'émergence ou réémergence des maladies humaines et animales ne sont pas des phénomènes nouveaux pour l'humanité, c'est tout simplement la virulence des maladies actuelles, la vitesse de propagation et l'amplitude géographique de ces phénomènes qui en font aujourd'hui une préoccupation majeure.

### II.3.2] Histoire des maladies émergentes

L'histoire évolutive de l'homme moderne (*Homo sapiens*) nous présente de nombreuses phases de rencontre avec des agents infectieux, rencontre aux conséquences parfois tragiques, lorsqu'il a été en contact avec des agents pathogènes auxquels il n'avait jamais été exposé et dont il était complètement dépourvu de toute défense immunitaire.

La confrontation à différents habitats que connaîtra l'homme au cours de son évolution marque sans doute les premières phases d'émergence de maladies humaines. L'ancêtre d'*Homo sapiens* a évolué dans un environnement déjà peuplé d'insectes hématophages, potentiellement vecteurs d'agents infectieux. Le développement de l'agriculture et de l'élevage il y a environ 10 000 ans, a vraisemblablement été une phase marquante de l'émergence des maladies humaines et animales. Près de 60% des maladies émergentes actuelles sont des zoonoses (Daszak et al., 2004; Wolfe et al., 2005; Morand et al., 2006) dont 75% proviennent de la faune sauvage (Taylor et al., 2001; Woolhouse & Gaunt, 2007; Jones et al., 2008) et près de  $\frac{3}{4}$  d'entre elles sont susceptibles d'être transmises par des vecteurs (Taylor et al., 2001; Pedersen et al., 2005). Il est donc clair que l'exposition quotidienne aux piqûres de vecteurs liée à la pratique de l'élevage et à la proximité des animaux domestiques en forte densité ont sans doute marqué une phase d'émergence considérable des maladies infectieuses. Cette période correspond par exemple à l'apparition de la rougeole il y a 7 000 ans (Furuse et al., 2010). Longtemps hébergée par le bétail, la rougeole va être transmise à l'homme et évoluer pour devenir une infection exclusivement humaine, rendu possible par l'augmentation de la taille des populations humaines et des densités devenues suffisantes pour le maintien du virus. En effet, pour qu'un agent infectieux soit maintenu dans une population d'hôtes, la taille et la densité de celle-ci doivent être au-dessus d'un seuil critique (Anderson & May, 1991; 1992). D'autres maladies telles que la variole, la peste ou le choléra feront également leur apparition et s'installeront dans les populations humaines durant cette période.

L'exploration et la colonisation du monde par les européens marquent une phase historique dans la propagation des maladies infectieuses à grande échelle. Cet épisode marquera la diffusion simultanée de la rougeole, la variole, la tuberculose et la grippe qui sévissaient en Europe et étaient totalement inconnues des populations du nouveau monde (Formenty et al., 2005). Ainsi, toutes ces maladies feront des centaines de millions de victimes parmi les indiens d'Amérique et les tribus côtières du continent africain. Durant cette période, l'humanité toute entière subira régulièrement des épidémies (peste, fièvre jaune, fièvre de la vallée du rift, fièvre catarrhale ovine, dengue, etc.). En revanche, les explorateurs européens vont contracter à leur tour diverses maladies tropicales, principalement zoonotiques à transmission vectorielle comme la trypanosomiase humaine africaine (THA), le paludisme ou la maladie de Chagas dont l'agent infectieux est un trypanosome véhiculé par des punaises en Amérique latine

(Sousa et al., 1974). Contrairement à l'ampleur que prendront les agents infectieux provenant d'Europe dans les régions tropicales, aussi bien dans leur diffusion que dans leur implantation, les agents infectieux contractés par les explorateurs n'engendreront pas d'impact sanitaire considérable à leur retour en Europe, du fait de l'absence de certains vecteurs. Seuls quelques pays comme l'Italie et la Grèce, qui présentaient des conditions climatiques favorables au développement du moustique, connaîtront quelques épidémies de paludisme jusqu'au milieu du XX<sup>ème</sup> siècle (Boccolini et al., 2012). Grâce à l'avènement de la vaccination, la généralisation d'utilisation des antibiotiques et l'amélioration des conditions d'hygiène dans certaines villes, plusieurs de ces maladies (rougeole, variole, tuberculose, peste, etc.) ont vu leur impact sanitaire reculer de façon considérable. Actuellement, l'humanité connaît une nouvelle crise sanitaire, résultant de la conjugaison de divers facteurs comme la croissance démographique, l'activité humaine, les difficultés socio-économiques et les changements climatiques (Chapman & Peres, 2001; Walsh et al., 2003; Piot et al., 2004; Wolfe et al., 2004). En effet, la population mondiale a connu une croissance exponentielle ces deux dernières décennies, passant de 1 milliard en 1990 à 6 milliards en 2012, augmentant ainsi la pression anthropique sur les autres espèces (Fowler & Hobbs, 2003). Cette pression se matérialise par l'exploitation forestière, l'extension et le changement d'utilisation des terres, la chasse et le développement du commerce à grande échelle. Ces pressions anthropiques sont en partie à l'origine de l'émergence de plusieurs maladies actuelles (Patz et al., 2000; Daszak et al., 2001; Wolfe et al., 2005).

La déforestation des forêts tropicales est une des causes majeures de l'émergence des agents infectieux parce qu'elle entraîne une proximité entre les hommes et la faune sauvage, réservoir de plusieurs agents étiologiques de maladies humaines. Plus la présence humaine est prolongée en milieu sauvage, plus il y a de risques de transmission d'agents infectieux. Ainsi, l'exploitation non sélective des essences forestières semble être moins risquée que l'exploitation sélective, qui nécessite plus de temps sur le terrain et plus de personnes (guide autochtone, botaniste, abatteur, forestier, etc.). Pour des raisons pratiques, logistiques et financières, l'exploitation sélective est très souvent pratiquée lors des exploitations de forêts tropicales, exposant au maximum l'ensemble des acteurs aux vecteurs hématophages. L'exploitation forestière nécessite la construction de routes pour l'acheminement des essences forestières vers les grandes

viles. Ces routes vont avoir un impact sur la fragmentation des habitats de la faune sauvage.

Bien que ces routes dites économiques aient facilité l'accès des communautés rurales à la santé et à l'éducation dans de nombreux pays d'Afrique centrale par exemple, elles ont également facilité le développement du trafic de gibier entre les zones rurales et les grandes villes (Wolfe et al., 2004; 2005). L'appréciation de la viande de brousse dans les ménages africains va donner un essor sans pareil à ce trafic en Afrique, particulièrement dans les pays du bassin du Congo (Fa et al., 1995). La demande de viande de brousse dans les pays du bassin du Congo est 4 fois supérieure à celle du bassin amazonien. On estime à 282 grammes de viande de brousse consommée par jour dans le bassin du Congo, soit 4.5 millions de tonnes de viande consommée chaque année (Fa et al., 2002; Karesh et al., 2005). Cette forte demande en viande accentue davantage la pression anthropique, déjà considérable, sur la faune sauvage; et cela n'est pas sans risque. Les premiers exposés sont des chasseurs puis toute la sphère de leur entourage (ménages, commerçants du gibier...) et enfin les consommateurs (Adams et al., 2001; Woodford et al., 2002; Wolfe et al., 2005; Lonsdorf et al., 2006). C'est cette chaîne de transmission qui est par exemple impliquée dans l'émergence des épidémies à virus Ebola (Feldmann & Geisbert, 2011). Lors des différentes épidémies du virus Ebola qui ont ravagé des populations entières de gorilles et chimpanzés en Afrique Centrale (Formenty et al., 1999; Rouquet et al., 2005; Bermejo et al., 2006), toute personne ayant été en contact avec les cadavres de ces animaux succombait également à la maladie (Georges-Courbot et al., 1997). Le coronavirus, agent infectieux responsable du syndrome respiratoire aiguë sévère (SRAS) qui a causé plus de 700 décès et près de 50 milliards de dollars de perte à l'économie mondiale en 2003, semble être d'origine zoonotique (Guan et al., 2003; Rota et al., 2003). En effet, ce virus a été transmis à l'homme en consommant la viande de civette (Daszak et al., 2004), qui servait de réservoir intermédiaire faute de consommation du réservoir naturel qui est en réalité la chauve-souris (Li et al., 2005).

Le changement d'utilisation des terres constitue aussi une source d'éclosion de maladies infectieuses et d'apparition de nombreux foyers d'épidémies un peu partout dans le monde (Patz et al., 2000). Avec l'explosion de la population mondiale, l'agriculture industrielle se pose comme un facteur incontournable pour répondre à la demande sans cesse croissante des ménages. Associée à l'utilisation du biocarburant qui tend à se



mondialiser, des milliers d'hectares de forêts sont coupés chaque année pour faire place aux plantations de diverses cultures vivrières et des palmiers à huile, augmentant ainsi les risques de contacts (Butchart et al., 2010). Parallèlement, l'anthropisation ou l'urbanisation provoque un retour de l'homme à proximité de la vie sauvage pouvant favoriser de nouvelles transmissions de pathogènes. En effet, il a été rapporté en Amérique latine que le retour de l'homme à proximité de la vie sauvage, soit par urbanisation soit par exploitations forestières et minières, a contribué à la réémergence du virus de la rage chez les populations du bassin amazonien (Schneider et al., 1996). En 2004, 46 personnes meurent de la rage à la suite de morsures de chauves-souris hémato-phages, dont 22 personnes au Brésil et 14 en Colombie (Schneider et al., 2005).

### II.3.3] Impacts et propagation des maladies émergentes

Les maladies émergentes infectieuses constituent aujourd'hui une menace réelle de santé publique, d'économie mondiale et pour la biodiversité (Jones et al., 2008; Parrish et al., 2008).

Les maladies infectieuses émergentes sont responsables d'environ 14 millions de décès par an dans le monde, dont près de 98% dans les pays du sud et environ 2% dans les pays industrialisés (WHO, 2000). En termes de mortalité, la fièvre hémorragique Ebola par exemple est d'une virulence sans cesse croissante chez l'homme. Son taux de mortalité a longtemps été estimé à près de 60%, mais depuis les épidémies de 2006-2007 en République Démocratique du Congo et en Ouganda, ce taux de mortalité avoisinerait maintenant les 90% (Feldmann & Geisbert, 2011). Ces estimations seront probablement revues à la hausse avec l'ampleur sans précédent de la dernière épidémie qui a commencé en Guinée Conakry en décembre 2013, avant de se répandre ensuite dans les pays voisins comme le Libéria et la Sierra Leone (Baush & Schwarz, 2014; Baize et al., 2014). Cette nouvelle épidémie qui a paralysé durant plusieurs mois l'économie de toute une région, ne peut avoir que des conséquences désastreuses dans les domaines économiques et sanitaires, déjà fragiles dans la région (Fauci, 2014).

La crise est aussi vétérinaire car l'impact de ces agents infectieux émergents touche également la biodiversité, avec d'énormes conséquences écologiques et économiques. Le déclin de la biodiversité lié aux infections des agents pathogènes constitue une menace considérable pour les populations naturelles. Les agents infectieux représentent une

partie importante de la biodiversité décrite, ils sont omniprésents dans la vie de la faune sauvage (Price, 1980). Pour des raisons évolutives, certains de ces agents infectieux peuvent causer la mort de plusieurs populations d'animaux sauvages, comme cela a été le cas pour le virus Ebola chez les grands singes (Leroy et al., 2004; Bermejo et al., 2006), et pour plusieurs autres agents pathogènes qui infectent les amphibiens (Daszak et al., 1999; Pounds et al., 2006). En effet, certains agents infectieux ont une variabilité et une régénération rapide, leur permettant d'infecter facilement plusieurs hôtes (Bitter et al., 1998; Simon et al., 1998). Ce sont ces agents pathogènes multi-hôtes qui, pour passer d'un hôte à un autre provoquent parfois la mort du précédent (Hahn et al., 1998; Murphy, 1998; Williams et al., 2002). Pour se maintenir dans une population d'hôtes, tout agent infectieux respecte un compromis entre sa virulence et la taille de cette population (Anderson & May, 1991). Des modèles mathématiques prédisent que l'agent infectieux pourrait disparaître si la population d'hôtes diminue en dessous d'un seuil critique (Anderson & May, 1992). C'est ce principe qui régule les agents infectieux multi-hôtes, dont la virulence peut varier d'un hôte à un autre selon leurs intérêts évolutifs. Le virus Ebola hébergé pacifiquement par trois espèces de chauves-souris (Leroy et al., 2005), se révèle très virulent chez les populations de grands singes et l'homme (Leroy et al. 2004; Bermejo et al., 2006; Chowell et al., 2004; Legrand et al., 2007). Ainsi, 60% d'agents infectieux à l'homme sont multi-hôtes, capables d'infecter trois à plusieurs hôtes différents avant de l'atteindre (Woolhouse & Gowtage-Sequeria, 2005; Wolfe et al., 2007). Ces agents infectieux constituent une menace sérieuse pour la biodiversité mondiale (Roelk-Parker et al., 1996; Harvell et al., 1999; Jensen et al., 2002; Walsh et al., 2003). Une proportion d'espèces relativement importante dans tous les taxons est aujourd'hui menacée d'extinction. Les ruminants, carnivores, rongeurs, oiseaux et primates constituent dans l'ordre les principaux taxons de transition d'agents pathogènes humains (Woolhouse et al., 2005; Smith & Guégan, 2010). D'autre part, la perte de la biodiversité entraîne aussi indirectement l'émergence de maladies dans la mesure où elle peut réduire le nombre de prédateurs et favoriser l'augmentation de la densité des populations de réservoirs (Ostfel & LoGuidice, 2003; Begon, 2008; Johnson et al., 2009; Johnson & Thielges, 2010). Autrement dit, la probabilité que les animaux que l'on rencontre, soit en tant que chasseur ou en tant qu'éco-touriste, soient réservoirs d'agents infectieux est très élevée. Par ailleurs, cette biodiversité animale est une source majeure de revenus pour de nombreux pays qui pratiquent l'écotourisme. Cette pratique

figure parmi les principales activités génératrices de revenus en Tanzanie et au Kenya avec plus d'un demi-milliard de dollars chaque année. Même pour les pays industrialisés, les activités liées à la faune sauvage peuvent générer des revenus considérables. Aux Etats Unis par exemple, les recettes des activités liées à la faune étaient de 101 milliards de dollars en 1996, soit 1.4% de l'économie nationale (Chardonnet et al., 2002). La perte de la biodiversité pourrait donc avoir des conséquences considérables aussi bien sur le plan sanitaire qu'économique.

L'incidence et la fréquence des maladies épidémiques, à la fois connues et nouvelles, a fortement augmenté au cours de ces dernières décennies. Comprendre ces augmentations de prévalence nécessite la compréhension des différents modes de transmission des maladies émergentes et les moyens qui facilitent leur diffusion.

La transmission d'agents infectieux peut se faire de cinq manières: (i) par contact, il peut s'agir d'un simple contact, ou d'un contact beaucoup plus étroit comme c'est le cas des maladies sexuellement transmissibles (MST); (ii) par la proximité, souvent l'agent infectieux est diffusé dans l'atmosphère; (iii) par un vecteur, souvent un arthropode hématophage comme le moustique, tique ou mouche, mais cette transmission peut aussi concerner les chauves-souris hématophages qui transmettent la rage chez les humains et le bétail en Amérique latine; (iv) par un hôte intermédiaire, un mode de transmission très en vogue chez les virus, qui consiste à atteindre l'hôte final par l'intermédiaire d'un autre qui en assure le transfert depuis l'hôte réservoir principal; (v) de la mère aux enfants, couramment appelée la voie verticale.

Si les virus représentent les agents infectieux les plus redoutés, c'est aussi parce qu'ils se diffusent par toutes ces voies de transmission. Sur près de 1415 agents pathogènes qui infectent l'homme, moins de 200 sont des virus et pourtant ce sont eux qui provoquent les plus grandes épidémies humaines, et sont en perpétuelle croissance depuis 1980 (Taylor et al., 2001; Woolhouse & Gaunt, 2007; Woolhouse et al., 2013). Les virus sont à 87% multi-hôtes et peuvent se transmettre à 45% par simple contact, 32% par un vecteur, 14% par hôtes intermédiaires, 5% par voie sexuelle et 4% par voie verticale (Pedersen et al., 2005). Ils représentent donc les plus redoutables agents infectieux, avec toutes ces voies de transmission et ils connaissent une croissance considérable parmi la biodiversité décrite. En 1980, l'on dénombrait encore 87 virus infectant l'homme (Woolhouse et al., 2013) et depuis cette date, plusieurs virus ont fait leur apparition.

Parmi les plus redoutables figurent le virus Nipah apparu en Malaisie en 1998, le virus du Nil occidental apparu aux USA en 1999, le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) apparu en Chine en 2002 et la grippe aviaire hautement pathogène (H5N1) apparue en Thaïlande en 2003. En moyenne deux à trois nouveaux virus apparaissent chaque année. A cette allure l'humanité s'attend à faire face à 15-20 nouveaux virus d'ici 2020 (Woolhouse et al., 2013). Les autres types d'agents infectieux (bactéries, protozoaires, helminthes, etc.) ne sont pas en reste. Entre 1940 et 2004, environ 335 agents pathogènes chez l'homme ont émergé (Jones et al., 2008) avec un gradient croissant d'agents infectieux plus on s'approche de l'équateur (Guernier et al., 2004). Bien que les régions tropicales semblent réunir l'ensemble des paramètres environnementaux (écologie, température, précipitations, etc.) favorables à l'émergence et au maintien des maladies infectieuses, leur diffusion est associée aux facteurs sociopolitiques, aux difficultés économiques, aux moyens de transports et aux changements climatiques (Lemey et al., 2003; Chan, 2014; Faria et al., 2014; Nih, 2014).

Les instabilités sociopolitiques jouent un rôle majeur dans le fléchissement des efforts de lutte contre des maladies infectieuses et parasitaires, leur recrudescence, l'interruption des caravanes médicales, la détérioration des systèmes de santé et le déplacement des populations infectées vers des populations saines. Ce phénomène migratoire représente la principale source de diffusion des maladies infectieuses et parasitaires (Gubler, 1998; Patz et al., 2000), observée depuis plusieurs décennies jusqu'à nos jours. Dans la lutte contre la trypanosomiase humaine africaine par exemple, les efforts consentis par les caravanes médicales des équipes mobiles coloniales ont permis de venir quasiment à bout de la maladie au milieu des années 60. L'instabilité politique que va connaître l'actuel République Démocratique du Congo au lendemain des indépendances de 1960 va entraîner une recrudescence des maladies avec la forte migration des populations rurales vers les grandes villes du pays. Le même phénomène s'observera en Angola, puis au Soudan où l'on constate jusqu'à ce jour les foyers les plus actifs de la maladie (Moore & Richer, 2001; Stanghellini & Josenando, 2001; Simarro et al., 2011). Comme la guerre engendre la pauvreté et la précarité, les difficultés économiques constituent également un facteur de diffusion des maladies. Une étude rapporte que la propagation du VIH en Guinée Bissau résulte en partie de la prostitution à laquelle se sont données des jeunes filles dont les familles sont tombées dans la

précarité à l'issue de la guerre de l'indépendance qui opposait le pays au colonisateur portugais (Lemey et al., 2004).

La construction des routes, le développement des transports rapides maritimes et aériens se sont accompagnés d'un accroissement de flux de personnes et des biens, des échanges commerciaux des denrées alimentaires ou d'animaux, favorisant ainsi une diffusion rapide des agents infectieux à l'échelle internationale (Morse, 1995; Gubler, 1998). Ce mode de diffusion s'est révélé particulièrement dangereux pour les agents pathogènes qui se transmettent dans l'air comme la grippe, ou encore ceux qui se transmettent par simple contact comme le virus hémorragique Ebola (Chan, 2014; Nih, 2014). Si les pays industrialisés, dotés d'outils performants de détection des fièvres à distance n'ont pas été très touchés par la dernière épidémie d'Ebola, le virus a tout de même touché 22 pays et menacé près de 32 millions de personnes dans le monde (Pigott et al., 2014).

Les perturbations climatiques que connaît notre planète actuellement peuvent s'accompagner de modifications écologiques dans certaines régions du globe, pouvant aussi favoriser l'extension de ces agents infectieux. La fièvre catarrhale ovine a émergé dans le bassin méditerranéen en 1998 parce que les conditions du milieu étaient devenues favorables au développement du vecteur *Culicoides imicola*, notamment en France où ce « moustique » s'est bien implanté à Balagne au nord de la Corse (Baldet et al., 2005). De même, la récente épidémie du virus Ebola en Afrique de l'Ouest indique que le foyer de la maladie, longtemps associé aux pays d'Afrique Centrale et des grands lacs, peut se déplacer dans d'autres régions si les conditions écologiques deviennent propices au maintien du virus (Briand et al., 2014; Chan, 2014). Sur les 335 agents infectieux qui ont émergé entre 1940 et 2004, les 10 pays les plus touchés sont dans l'ordre: Australie, Japon, Allemagne, Chine, Inde, Brésil, RDC, Malaisie, Égypte et Mexique (Woolhouse, 2008). La question d'émergence ou de recrudescence des maladies infectieuses et parasitaires est donc bien un problème mondial et non plus une simple préoccupation des pays du sud; d'autant plus que l'incidence des maladies infectieuses émergentes dans les pays du nord a augmenté de 10 à 20% en une décennie (Woolhouse, 2008).

Contrôler ces agents infectieux d'origine zoonotique est donc une préoccupation majeure et une question mondiale de santé publique. Les  $\frac{3}{4}$  d'entre eux circulant via le

sang (Taylor et al., 2001; Pedersen et al., 2005), ils sont susceptibles d'être retrouvés dans des repas sanguins d'arthropodes hématophages. C'est le cas du VIH ou du virus H5N1 qui ont été détectés chez des arthropodes hématophages (Humphrey-Smith & Chastel, 1988; Webb et al., 1989; Humphrey-Smith et al., 1993; Eigen et al., 2002; Sawabe et al., 2006; Barbazan et al., 2008). En effet, ces différentes études montrent que le VIH est capable de rester détectable jusqu'à 8 jours dans l'intestin d'une punaise (*Cimex hemipterus*) et jusqu'à 10-14 jours dans l'intestin des tiques molles (*Argas reflexus*). Et d'autre part, Barbazan et ses collaborateurs (2008) montrent pour la première fois que le virus H5N1 peut rester détectable dans les repas sanguins de moustiques sauvages, même si leur implication dans sa transmission mécanique reste encore discutée (Sawabe et al., 2006). Certains arthropodes hématophages, notamment les glossines, ont un comportement alimentaire très diversifié, comprenant plusieurs hôtes vertébrés allant des amphibiens, reptiles, mammifères aux oiseaux (Weitz, 1963; Gouteux et al., 1994; Clausen et al., 1998; Spath, 2000; Waiswa et al., 2006; Muturi et al., 2011). En plus d'être actives, ces mouches ont également la particularité d'être souvent capturées gorgées (Gouteux et al., 1984; Simo et al., 2012a). C'est dans ce sens que nous nous sommes proposés de les utiliser comme moyen d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage afin de caractériser d'éventuels agents pathogènes qui circulent dans le milieu.

### **III - PRÉSENTATION DES MODÈLES BIOLOGIQUES ET SITES D'ÉTUDES -**

---

### III.1] PRÉSENTATION DES MODÈLES BIOLOGIQUES DE L'ÉTUDE

Mortelles en absence de traitement, la trypanosomiase humaine africaine (THA) est une maladie parasitaire qui touche près de 60 millions de personnes en Afrique subsaharienne (OMS, 2006). La forme animale de cette maladie freine considérablement l'industrie agro-alimentaire dans les pays concernés, occasionnant d'énormes pertes économiques chaque année. Les trypanosomes sont principalement transmis par les glossines, mais peuvent également être transmis de façon mécanique par des stomoxes et des tabanides (D'Amico et al., 1996; Desquesnes & Davila, 2002; Desquesnes & Dia, 2004). Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à ces trois groupes de diptères hématophages: glossines, stomoxes et tabanides.

#### III.1.1] Glossines

##### III.1.1.a] Description

Les glossines, communément appelées mouches tsé-tsé, sont des diptères hématophages du genre *Glossina* appartenant à la famille des Glossinidae. Adultes, ce sont des mouches de couleurs sombres ou brunâtres, plutôt robustes et allongées sur une taille variant de 6 à 14 mm (figure 1).

Facilement reconnaissable au repos par leurs ailes pliées comme des ciseaux fermés, les glossines sont majoritairement diurnes et leur activité dépend de facteurs climatiques comme la température, l'humidité, la luminosité, le vent et la pluviosité (Ndegwa et al., 1992; Courtin et al.,



**Figure 1** : Exemple de glossine (*Glossina palpalis*).

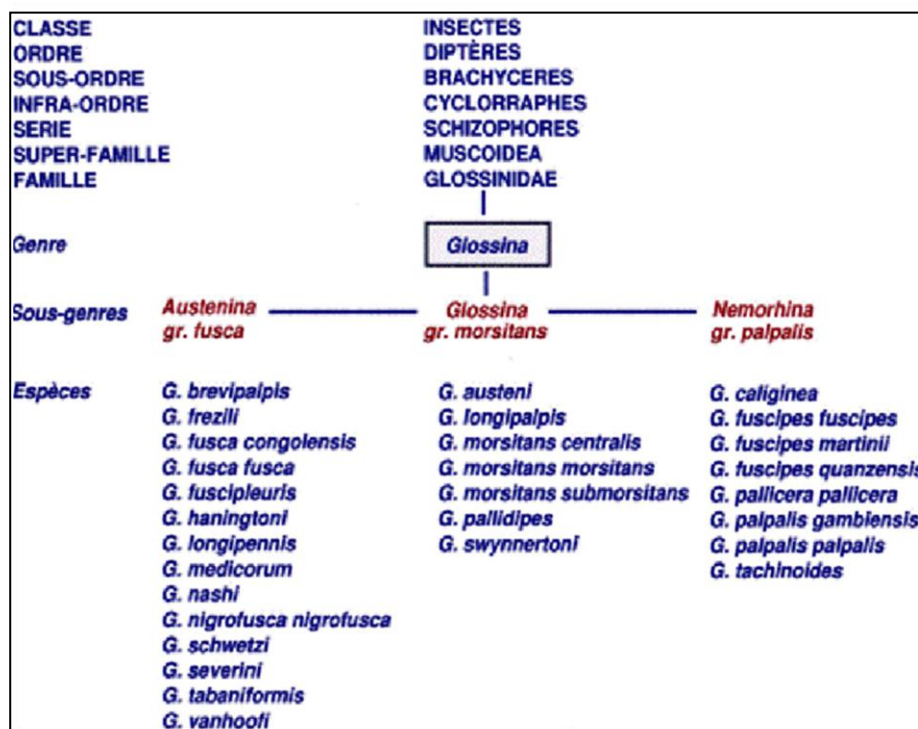
2010). L'activité de ces diptères est aussi motivée par la recherche de nourriture, d'un lieu de repos et chez les mâles par la recherche de femelles. Les deux sexes sont hématophages et se nourrissent exclusivement de sang des vertébrés. Les mâles qui font des repas relativement plus petits que les femelles se gorgent environ toutes les 24 à



48h, alors que les femelles se gorgent trois fois en dix jours correspondant au temps de la gestation (Buxton, 1955). Les femelles prennent un repas de sang immédiatement à la sortie de leur stade pupal, puis un deuxième repas à un moment variable et le dernier 2-3 jours avant la larviposition (Itard, 1986; Cuisance, 2001).

### III.1.1.b] Classification

Les glossines sont des insectes diptères, du sous-ordre Brachycères qui comprend la super-famille des Muscoidea et la famille des Glossinidae. Cette famille est composée d'un seul genre (*Glossina*) et de trois sous-genres (*Austenina*, *Glossina* et *Nemorhina*) subdivisés respectivement en trois groupes (*fusca*, *morsitans* et *palpalis*). A ce jour, 31 espèces et sous espèces de glossines ont été décrites et réparties dans les trois groupes (figure 2).

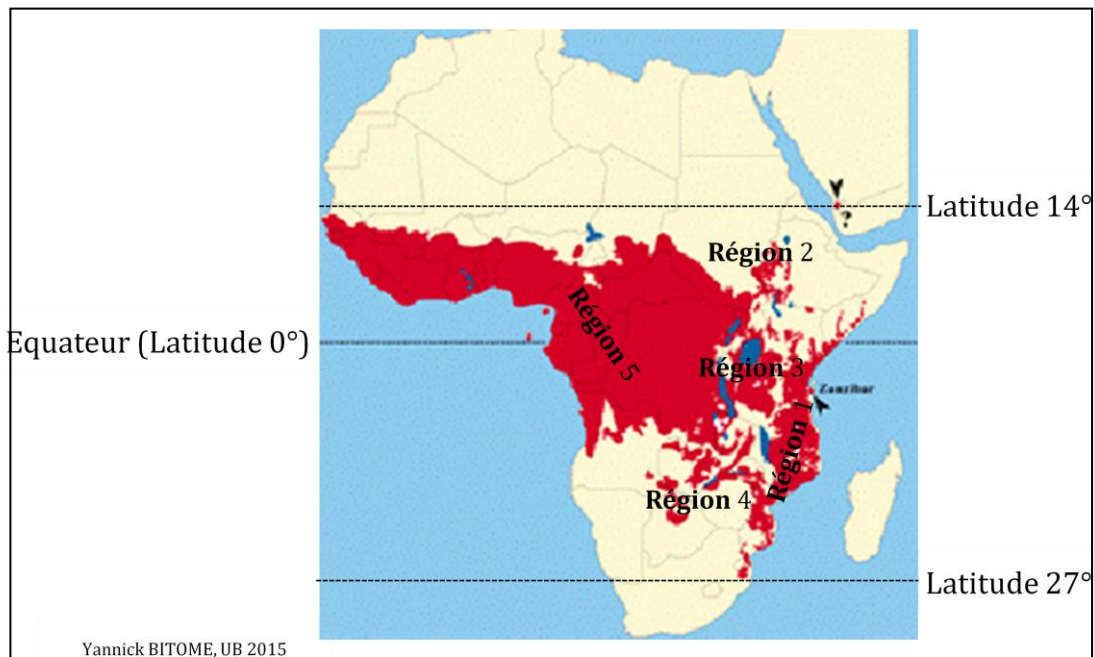


**Figure 2:** Classification des glossines, extrait du CD « Les Glossines ou mouches tsé-tsé » (logiciel d'identification et d'enseignement, ORSTOM/CIRAD).

### III.1.1.c] Répartition géographique

Non présentes au nord du continent africain due à l'aridité du désert du Sahara et limitées au sud par les basses températures saisonnières; les glossines se situent approximativement entre 14°21' de latitude nord et 27°51' de latitude sud (figure 3). En

outre, des spécimens fossiles de la période du Miocène (20 à 30 millions d'années) ont été retrouvés dans les schistes de l'état du Colorado en Amérique du Nord (Cockerell, 1918). Ces espèces américaines, probablement disparues après la glaciation du Pléistocène, suggèrent que ces mouches avaient une portée beaucoup plus importante que les quelques 10 millions de kilomètres carré qu'elles occupent actuellement en Afrique sub-saharienne (Leak, 1999). Les 31 espèces et sous-espèces se partagent cette aire de répartition avec quelques chevauchements (Ford & Katondo, 1979), comme le montre la clé d'identification de Pollock (1982) qui divise l'Afrique en 5 grandes sous-régions (figure 3).



**Figure 3:** Répartition géographique des glossines, carte extraite du CD « les Glossines ou les mouches tsé-tsé » (logiciel d'identification et d'enseignement, ORSTOM/CIRAD). Cette carte a été ensuite modifiée pour illustrer la répartition des glossines en 5 régions (Pollock, 1982).

Même si cette clé ne mentionne en priorité que des espèces ayant un intérêt médical et vétérinaire, elle illustre globalement la répartition des différentes espèces majeures. Dans la région 1, longeant toute la côte orientale du continent africain, 6 espèces appartenant au sous-genre *Glossina* (*Glossina austeni*, *G. morsitans*, *G. pallidipes*, *G. swynnertoni*) et au sous-genre *Austenina* (*G. brevipalpis*, *G. longipennis*) sont majoritairement rencontrées. Dans la région 2, englobant le Soudan, l'Ethiopie et la Somalie, 8 espèces appartenant aux 3 sous-genres *Glossina* (*G. austeni*, *G. morsitans*, *G. pallidipes*); *Austenina* (*G. brevipalpis*, *G. fuscipleuris*, *G. longipennis*) et *Nemorhina* (*G. fuscipes*, *G. tachinoides*) sont fréquemment rencontrées. Dans la région 3, comprenant

l'Ouganda, le Kenya et la Tanzanie, 10 espèces appartenant aux 3 sous-genres *Glossina* (*G. austeni*, *G. morsitans*, *G. swynnertoni*, *G. pallidipes*) ; *Austenina* (*G. brevipalpis*, *G. fusca*, *G. fuscipleuris*, *G. longipennis*, *G. nigrofusca*) et *Nemorhina* (*G. fuscipes*) sont souvent retrouvées. Dans la région 4 qui comprend le sud et le sud-est du continent, 4 espèces appartenant aux 3 sous-genres *Glossina* (*G. morsitans*, *G. pallidipes*); *Austenina* (*G. brevipalpis*) et *Nemorhina* (*G. fuscipes*) sont souvent rencontrées. Et dans la région 5, qui englobe toute l'Afrique Centrale et Occidentale, 20 espèces appartenant aux 3 sous-genres *Glossina* (*G. longipalpis*, *G. m. submorsitans*); *Austenina* (*G. brevipalpis*, *G. frezili*, *G. fusca*, *G. fuscipleuris*, *G. haningtoni*, *G. longipennis*, *G. medicorum*, *G. nashi*, *G. nigrofusca*, *G. schwetzi*, *G. severini*, *G. tabaniformis*, *G. vanhoofi*) et *Nemorhina* (*G. caliginea*, *G. fuscipes*, *G. pallicera*, *G. palpalis*, *G. tachinoides*) sont souvent rencontrées.

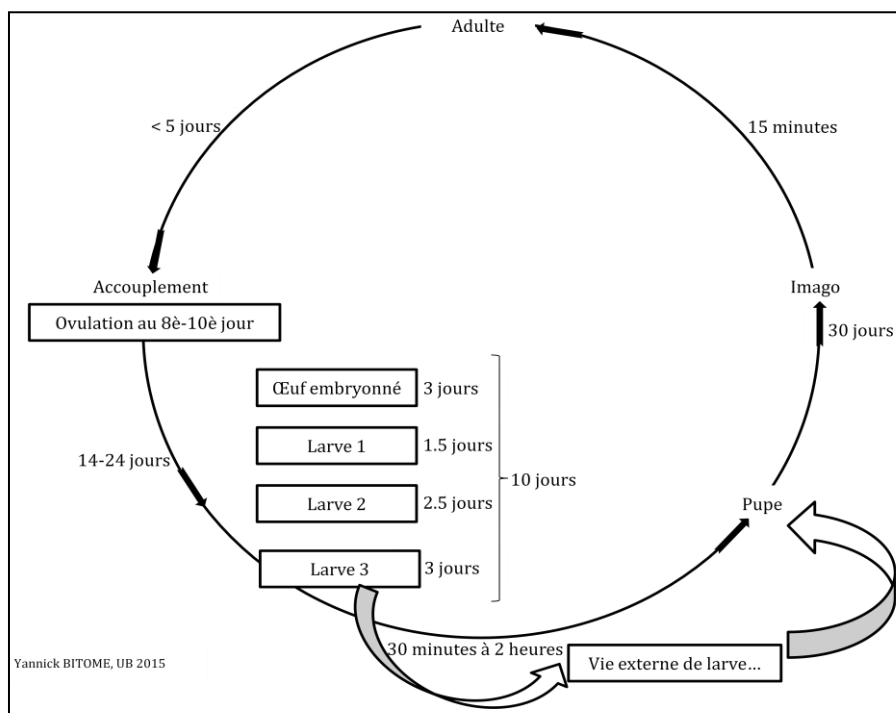
#### III.1.1.d] Ecologie

Le genre *Glossina* est subdivisé en trois principaux groupes d'espèces, correspondant chacun à un habitat bien déterminé (Machado, 1959; Finelle et al., 1963; Yvoré et al., 1965; Challier, 1982). Le groupe *morsitans* (sous-genre *Glossina*) est un groupe d'espèces vivant en savane, le groupe *fusca* (sous-genre *Austenina*) est un groupe d'espèces forestières et le groupe *palpalis* (sous-genre *Nemorhina*) est constitué des espèces riveraines principalement impliquées dans la transmission de la THA en Afrique subsaharienne (Bouyer et al., 2009; Koné et al., 2011; Hoppenheit et al., 2013). En effet, toutes les espèces du groupe *morsitans* sont principalement savanicoles, se retrouvant essentiellement dans les broussailles et aux taillis des grandes savanes africaines. Dans le groupe *fusca*, 11 des 14 espèces et sous-espèces sont forestières et d'autres comme *Glossina nigrofusca*, *G. fusca fusca* et *G. brevipalpis* sont souvent retrouvées à la lisière des bosquets. Dans le groupe *palpalis*, les espèces sont principalement riveraines des milieux anthropisés (champs, débarcadères, villages, etc.). *G. palpalis palpalis* est souvent l'espèce la plus abondante dans ces milieux anthropisés où elle se nourrit aussi bien sur les animaux sauvages et domestiques que sur les humains (Gouteux & Laveissière, 1982; Gouteux et al., 1982; Gouteux, 1983; Kohagne et al., 2010). Avec d'autres espèces comme *G. fuscipes fuscipes*, *G. fuscipes quanzensis*, *G. palpalis gambiensis* et *G. tachinoides*, *G. palpalis palpalis* assure l'essentielle de la transmission de la THA en Afrique subsaharienne (Bouyer et al., 2009; Koné et al., 2011; Hoppenheit et al., 2013). Cependant, il est bien connu que la survie des glossines dans un milieu dépend de l'action conjuguée

de plusieurs paramètres écologiques tels que le microclimat, la végétation ombragée et la présence des hôtes nourriciers (Ford, 1970; Laveissière & Hervouët, 1981). L'écologie de ces différentes espèces peut donc varier à un moment donné selon les contraintes des différents milieux. Pour ce qui est de la disponibilité d'hôtes, il est bien documenté que la distribution écologique des glossines est fortement corrélée à celle des hôtes (Allsopp et al., 1979; Gouteux et al., 1982; Dagnogo et al., 1985; Laveissière et al., 1985). Cependant à cause de l'intolérance relative de ces mouches hématophages aux basses températures les rendant inactives en dessous de 16°C, les glossines n'ont pas encore été retrouvées dans des zones montagneuses.

### III.1.1.e] Cycle biologique

Les glossines présentent un cycle de développement long d'environ 40 à 100 jours, un faible taux de reproduction d'environ 10 descendants au total par femelle, une grande longévité de 100 jours (Rogers & Randolph, 1985) et un sex-ratio souvent biaisé en faveur des femelles lors des piégeages (Glasgow, 1970; Gouteux & Jarry, 1998). Considérées comme les diptères les plus évolués, les glossines sont des insectes vivipares où la femelle donne naissance tous les 10 jours à une larve en forme d'asticot, qui aboutira à un adulte sans se nourrir en milieu extérieur (figure 4).



**Figure 4:** Cycle biologique d'une glossine, modifié d'après le cycle de D. Cuisance 1989.

Le cycle biologique des glossines, relativement complexe, commence par une phase larvaire intra-utérine après l'ovulation. Cette phase de 10 jours comprend 3 stades larvaires durant lesquels l'embryon, en position utérine, reste alimenté par la mère via une glande lactifère. A maturité, 2 à 3 jours après son dernier repas, la larve est déposée dans un gîte de reproduction qui est le plus souvent le lieu de repos diurne de la femelle caractérisé par un couvert végétal assurant une ombre suffisante. Elle va ensuite connaître une phase de développement extérieur d'environ 30 minutes à 2 heures avant une pupaison rapide à 2 ou 8 centimètres de profondeur dans le sol. La durée de cette pupaison, qui va transformer la larve en imago et ensuite en adulte 15 minutes plus tard, varie de 20 à 80 jours selon les températures du milieu et les espèces de glossines. En élevage, cette phase dure en moyenne 30 jours à 25°C, avec parfois 2 à 4 jours de moins chez les femelles (Itard, 1986; Cuisance, 2001). Les femelles sont généralement fécondées dès la sortie du puparium avant même leur premier repas sanguin. Les spermatozoïdes sont stockés dans la spermathèque et un seul accouplement suffit à la fécondation. La femelle produit sa première larve et à l'âge de 14-24 jours après son émergence, puis se synchronise à un rythme d'une larve tous les 10 jours. Les mâles quant à eux, cherchent à prendre leur premier repas sanguin dès la sortie du puparium, repas essentiel à l'augmentation de la fertilité de leurs spermatozoïdes. A partir de là, ils vont consacrer en moyenne 15 à 30 minutes de vol journalier à la recherche de femelles et de nourriture (Bursell & Taylor, 1980), avec une fréquence d'alimentation d'environ toutes les 24 à 48 heures (Weitz & Jackson, 1955; Weitz & Glasgow, 1956; Weitz, 1963).

#### III.1.1.f] Régime alimentaire

Chez les glossines, les deux sexes sont hématoiphages et se nourrissent principalement de sang de vertébrés (Challier, 1971; 1982). Les femelles prennent des gros repas de sang et se gorgent environ trois fois en dix jours, le temps d'une gestation complète (Buxton, 1955) alors que les mâles prennent de plus petits repas sanguins et se gorgent plus fréquemment. Jusque dans les années 1970, il a été admis que les glossines trouvaient leurs hôtes uniquement par la vue; comme pour suggérer l'avantage de leurs grands yeux composés. De plus, le nombre relativement important de mouches capturées à l'aide de pièges visuels a longtemps conforté cette hypothèse (Buxton, 1955; Weitz & Jackson, 1955; Weitz & Glasgow, 1956). Il sera par la suite montré que 90% des

glossines sont attirées vers leurs hôtes par simple odorat (Vale, 1974a) et ce n'est qu'à moins de 10 mètres de leurs cibles que les stimuli visuels agissent (Vale, 1974b).

De nombreuses études montrent que les glossines se nourrissent sur une gamme diversifiée d'hôtes vertébrés, constituée de mammifères, de reptiles et d'oiseaux (Weitz, 1963; Clausen et al., 1998; Spath, 2000). Les artiodactyles sauvages ou domestiques, principalement les Bovidés et les Suidés, constituent les principaux hôtes vertébrés des glossines (Gouteux & Jarry, 1998; Njiokou et al., 2004; 2006; Simo et al., 2008; Farikou et al., 2010). Toutefois certaines espèces de glossines prennent un nombre considérable de repas sanguins sur les reptiles, principalement les varans et les crocodiles (Gouteux et al., 1994; Waiswa et al., 2006). Le comportement alimentaire des glossines dépend donc de l'espèce. Ainsi il est possible de constituer cinq groupes d'espèces selon leurs préférences alimentaires (Weitz, 1963): (i) le groupe des espèces qui se nourrissent exclusivement des suidés (exemple: *Glossina austeni*, *G. swynnertoni* et *G. tabaniformis*); (ii) le groupe des espèces qui se nourrissent sur des suidés et bovidés (exemple: *G. morsitans*); (iii) celui des espèces qui se nourrissent essentiellement sur des bovidés (exemple: *G. pallidipes*, *G. fusca* et *G. longipalpis*); (iv) celui des espèces qui se nourrissent d'autres mammifères que suidés et bovidés (exemple: *G. longipennis* et *G. brevipalpis*); enfin (v) le groupe des espèces opportunistes qui se nourrissent d'hôtes disponibles, y compris l'homme (exemple: *G. palpalis*, *G. fuscipes* et *G. tachinoides*).

Cependant, ces habitudes alimentaires attribuées aux différents groupes d'espèces ne sont pas immuables. Elles varient selon la disponibilité de l'hôte, c'est d'ailleurs la raison pour laquelle la répartition des glossines est souvent corrélée à celle des hôtes vertébrés (Allsopp et al., 1979; Gouteux et al., 1982; Dagnogo et al., 1985; Laveissière et al., 1985). Les espèces de glossines réadaptent leurs habitudes alimentaires en fonction des hôtes présents dans le milieu et peuvent même finir par les favoriser dans leurs choix alimentaires futurs. En condition expérimentale, une étude sur l'apprentissage trophique des glossines montre qu'une espèce de glossine est capable de se nourrir par contrainte sur un hôte différent des préférences de l'espèce et finir par l'intégrer dans son choix premier lorsqu'elle n'est pas très affamée (Bouyer et al., 2007). Bien que les habitudes alimentaires des espèces de glossines soient génétiquement déterminées (Buxton, 1955; Weitz & Jackson, 1955; Weitz & Glasgow, 1956), elles peuvent s'adapter à d'autres hôtes quand leurs hôtes principaux font défaut. En revanche, les espèces qui ne

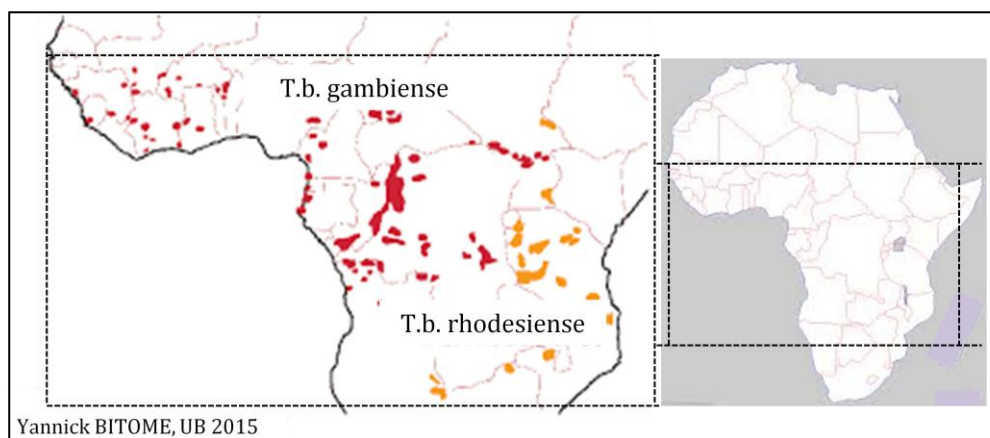
peuvent pas se réadapter deviennent rares ou disparaissent complètement du milieu. C'est le cas des espèces du groupe *fusca* dont la raréfaction ou la disparition en Afrique Centrale a été associée à la chasse abusive de certains mammifères sauvages (Gouteux, 1991; Gouteux et al., 1994). Ces groupes d'espèces spécialistes d'un type d'hôte ne sont donc pas immuables, les espèces deviennent généralistes ou opportunistes lorsque leurs hôtes préférés ne sont pas présents dans le milieu et finissent souvent par piquer les humains (Gibson et al., 1978; Mehlitz, 1986). Dans le cadre épidémiologique, les espèces généralistes accentuent les risques de transmission de maladies. *G. fuscipes fuscipes* par exemple prend ses repas sanguins sur les reptiles, les suidés, les bovidés et les humains (Gouteux et al., 1994; Clausen et al., 1998; Waiswa et al., 2006). Au sud Cameroun, *G. palpalis palpalis* et *G. pallicera pallicera* prennent leurs repas sanguins sur les humains, les animaux domestiques (porc, chèvre, mouton) et sur des céphalophes ou antilopes (Njiokou et al., 2004; Simo et al., 2008; Farikou et al., 2010). L'opportunisme alimentaire des espèces comme *G. palpalis palpalis* et bien d'autres représente ainsi un réel danger épidémiologique dans des anciens foyers de maladie du sommeil (Laveissière et al., 1985; Dagnogo et al., 1996; Bouyer et al., 2009; Kohagne et al., 2011; Hoppenheit et al., 2013).

En outre, bien que les deux sexes soient exclusivement hématophages, il peut arriver que pour une même espèce, mâles et femelles n'aient pas les mêmes habitudes alimentaires (Jordan & Curtis, 1968; Dagnogo et al., 1996; Waiswa et al., 2006). Après avoir observé une différence d'alimentation entre mâles et femelles de *Glossina austeni*, il a été montré en conditions expérimentales que les femelles alimentées avec du sang de lapin montrent une fécondité plus élevée que celles alimentées avec du sang de chèvre qui semblent préférer les mâles (Jordan & Curtis, 1968). Une étude contrôlée a montré en Côte d'Ivoire que lorsqu'elles ont le choix entre l'homme et le porc, les femelles de *G. palpalis palpalis* se nourrissent plus sur le porc que les mâles (Dagnogo et al., 1996). En Ouganda, il a été observé en milieu naturel que les mâles de *G. fuscipes fuscipes* se nourrissent plus sur des reptiles (varans), pendant que les femelles de la même espèce se nourrissent sur des Bovidae et des Suidae (Waiswa et al., 2006). Ces différences alimentaires pourraient expliquer les différences de taux d'infections à la THA parfois observées entre mâles et femelles de la même espèce de glossine, avec très souvent les femelles plus infectées que les mâles (Bourzat & Gouteux, 1990; Dagnogo et al., 1996; Waiswa et al., 2006). La compréhension des interactions entre hôtes, vecteurs et

parasites, en particulier des connaissances sur le régime alimentaire, constitue un paramètre essentiel pour la conception de modèles prédictifs d'émergence et de transmission de THA (Milligan & Baker, 1988; Rogers, 1988), mais aussi pour la conception des appâts olfactifs pouvant servir à améliorer les taux de capture des glossines dans les pièges visuels (Vale, 1974a; Vale, 1974b; Vale, 1980; Vale et al., 2014).

### III.1.1.g] Impact vectoriel

Très peu d'insectes d'intérêt médical, vétérinaire ou économique ont fait l'objet, sur le terrain comme au laboratoire, d'études aussi poussées que les glossines. Les trois groupes de glossines sont impliqués dans la transmission des différents trypanosomes, responsables de la trypanosomiase humaine africaine (THA) et de la trypanosomiase animale africaine (TAA). L'agent causal de la trypanosomiase humaine est un trypanosome appartenant au complexe d'espèces de *Trypanosoma brucei*, subdivisé classiquement en trois sous-espèces: *T. brucei gambiense*, responsable de la forme chronique de la maladie en Afrique occidentale et centrale; *T. brucei rhodesiense*, responsable de la forme aiguë en Afrique orientale et *T. brucei brucei* qui est pathogène pour les animaux uniquement (Tait et al., 1984). Les groupes *morsitans* et *palpalis* comprennent les principales espèces vectrices des différents trypanosomes qui causent la THA et la TAA en Afrique sub-saharienne (Reifenberg et al., 1997; Solano et al., 1999; Kazadi, 2000). La THA, mortelle en absence de traitement, touche près de 60 millions de personnes dans 37 pays d'Afrique sub-saharienne (Hoare, 1972; Kennedy, 2008; Welburn et al., 2009) avec 10 000 nouveaux cas chaque année (Simarro et al., 2011).



**Figure 5:** Illustration de la répartition de la trypanosomiase humaine africaine (THA) en Afrique sub-saharienne. Cartes remodifiées à partir des cartes issues du rapport publié par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1989 sur la maladie du sommeil.



En effet, *Trypanosoma brucei gambiense* correspond à 95% des infections sur le continent (Simarro et al., 2011) et touche 24 pays d'Afrique occidentale et centrale (Hoare, 1972; Kennedy, 2008), *T. brucei rhodesiense* touche 13 pays d'Afrique orientale (Welburn et al., 2009) et *T. brucei brucei* est uniquement pathogène pour les animaux. La trypanosomiase est donc une maladie parasitaire dont la répartition se superpose parfaitement à celle du vecteur (Ford & Katando, 1971; 1973; Sedda et al., 2010). Cependant les taux d'infections diffèrent d'une région à une autre, avec une hétérogénéité nettement prononcée en Afrique Centrale (Simo et al., 2008; Simarro et al., 2011). Certains pays comme la République Démocratique du Congo (RDC) présentent des taux de prévalence relativement élevés (Moore & Richer, 2001; Simarro et al., 2008; Simo et al., 2012b), alors qu'ils restent relativement faibles dans d'autres pays (Njiokou et al., 2006; Kohagne et al., 2011). Une des hypothèses qui pourrait expliquer cette différence de prévalence est le flux migratoire vers les grandes villes, considérable en RDC avec des milliers de déplacés qui fuient l'insécurité dans les zones rurales souvent sous contrôle des groupes de milices rebelles.

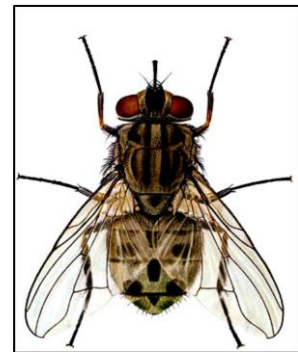
Tout comme le vecteur, la TAA sévit sur près de 9 millions de kilomètres carré en Afrique sub-saharienne (Leak, 1999) où elle infecte plus de 70% du bétail (Hursey, 2001; Aksoy, 2003). Les espèces *Trypanosoma congolense* et *T. vivax* entraînent la mort de millions de bovins par an, engendrant d'énormes pertes économiques dans l'industrie agroalimentaire (Shaw, 2004). Ces pertes économiques engendrées par les glossines à l'industrie agricole en Afrique sont évaluées à 4.5 milliards de dollars américains par an (Budd, 1999; Reinhardt, 2002). Elles sont calculées, non pas seulement à la seule mort physique du bétail liée à la TAA, mais également à la nuisance liée aux piqûres douloureuses des glossines qui entraînent une réduction considérable de la production du lait et de la viande. En revanche, les glossines présentent des effets néfastes sur la santé publique, vétérinaire et sur l'ensemble de l'économie mondiale aussi bien par les maladies dont elles sont à l'origine que par les pertes économiques énormes qu'elles engendrent à l'industrie du bétail, mais elles peuvent également constituer un avantage écologique proche des régions désertiques. En effet, une étude prétend que la présence des glossines empêche la désertification de vastes zones de terre à la frontière saharienne, souvent due au surpâturage exercé par les agriculteurs (Jordan, 1986). Aussi, il est également important de savoir que toutes les piqûres de glossines ne sont pas infectantes. En condition expérimentale, seules 50% de glossines infectées piquant

un hôte lui inoculent le parasite. 50% de glossines dont les intestins sont pourtant infectés aux trypanosomes ne produisent pas de parasites matures, ce qui indique qu'elles ne seront jamais infectieuses (Moloo et al., 1996; Dukes et al., 1989; Maudlin & Welburn, 1994).

### III.1.2] Stomoxes

#### III.1.2.a] Description

Les stomoxes sont des diptères du genre *Stomoxys* compris dans la sous-famille *Stomoxyinae* de la famille des Muscidae. Chez ces mouches, les 2 sexes sont hématoiphages, même si les mâles de certaines espèces comme *S. calcitrans* et *S. niger* se nourrissent parfois de nectar (Wall & Shearer, 1997). Ce sont des mouches trapues, d'environ 3 à 10 mm de longueur, de couleur grisâtre et tachetée, ayant l'aspect d'une mouche domestique (*Musca domestica* Linné, 1758) mais possédant un appareil buccal de type piqueur (figure 6).



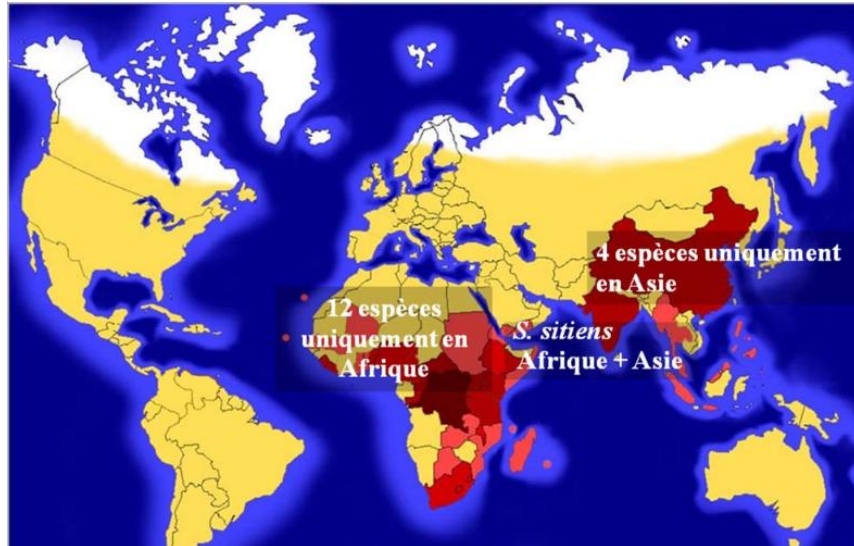
**Figure 6:** Exemple de stomoxe (*Stomoxys calcitrans*).

#### III.1.2.b] Classification

Parmi les 180 genres que compte la grande famille des Muscidae qui regroupent 4500 espèces décrites (De Carvalho et al., 2005), la sous-famille *Stomoxyinae* en dénombre 10 genres dont les plus importants sont: *Haematobosca*, *Haematobia* et *Stomoxys* (Zumpt, 1973). Le genre *Stomoxys* comprend 18 espèces (Zumpt, 1973), réparties de façon hétérogène à travers le monde.

#### III.1.2.c] Répartition géographique

A l'exception de *Stomoxys calcitrans*, qui a une distribution mondiale, les 17 autres espèces du genre sont exclusivement tropicales, avec 12 espèces en Afrique, 4 en Asie et 1 (*S. sitiens*) à cheval entre les deux continents (figure 7).



**Figure 7:** Distribution des stomoxes dans le monde, avec une distribution cosmopolite de *Stomoxys calcitrans* (d'après N. Dsouli 2009). La couleur jaune pâle correspond à la distribution de *S. calcitrans* et la couleur rouge correspond à la distribution des autres espèces *Stomoxys sp.* + *S. calcitrans*.

Des 13 espèces du continent africain, les plus fréquentes sont *S. inornatus*, *S. tansvittatus*, *S. omega*, *S. niger*. Bien représentée sur le continent africain, la sous-espèce *S. n. niger* est la plus étendue des stomoxes afro-tropicaux (Kangwagye, 1974; Charlwood & Sama, 1996). Elle est présente sur une large partie du continent africain, en Ouganda (Kangwagye, 1974) et en Tanzanie (Charlwood & Sama, 1996). Elle a également été introduite à Madagascar, à l'île de la Réunion et à l'île Maurice (Zumpt, 1973).

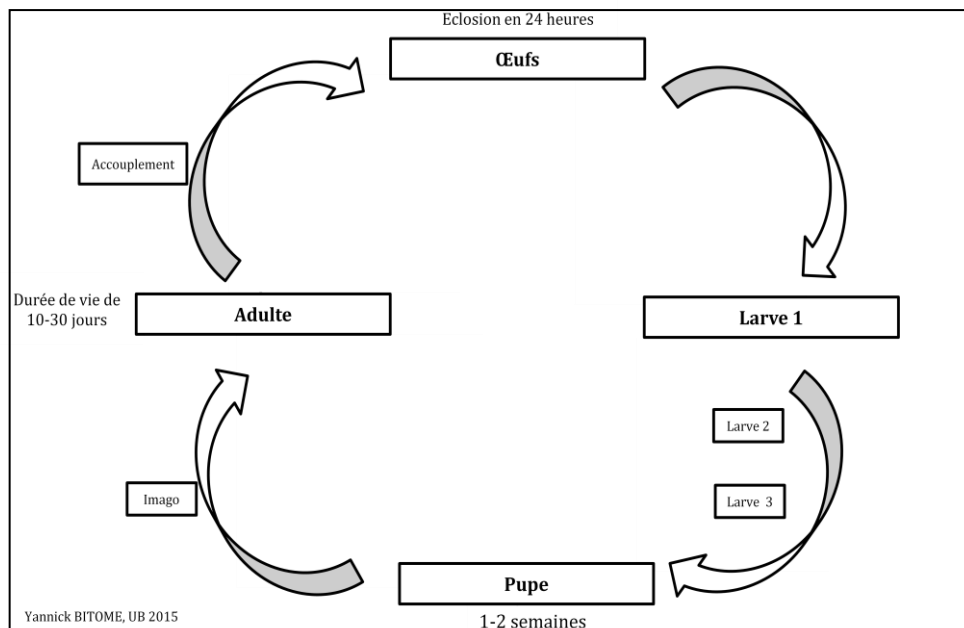
#### III.1.2.d] Ecologie

L'écologie des stomoxes est très souvent associée à celle de leurs hôtes préférentiels (Zumpt, 1973; Newson, 1977). Elle effet, comme ces mouches piquent préférentiellement les mammifères à sang chaud du type bovidés et équidés (Hafez & Gamal-Eddin, 1959), elles sont très souvent retrouvées autour des fermes agricoles. Même si l'espèce cosmopolite *S. calcitrans* est considérée comme anthropophile (Zumpt, 1973; Mihok et al., 1995), ce n'est qu'en absence de leurs hôtes préférés que les stomoxes piquent l'homme et vont donc se retrouver dans les milieux anthropisés (champs, villages, plages, etc.). De façon générale, les stomoxes abondent dans les milieux ouverts de type forêt secondaire, savane et village (Mavoungou et al., 2008a; Bitome Essono et al., 2015), bien que l'espèce *S. xanthomelas* semble inféodée à la canopée des forêts matures (Mavoungou et al., 2007). A raison de leur petite taille, ces mouches hématophages ont des piqûres relativement moins douloureuses que celles des

glossines et tabanides, et peuvent se nourrir aussi bien sur des petits mammifères que des grands mammifères à sang chaud des milieux ouverts.

### III.1.2.e] Cycle biologique

Le cycle biologique des stomoxes comprend 6 stades (Ross et al., 1982): 1 stade œuf, 3 stades larvaires, 1 stade puparium et 1 stade adulte (figure 8).



**Figure 8:** Cycle biologique d'un stomoxe, avec les 6 différents stades : 1 stade œuf, 3 stades larvaires, 1 pupaison et 1 stade adulte.

Dès sa sortie du puparium, la femelle adulte est fécondée avant même son premier repas sanguin et stocke les spermatozoïdes dans la spermathèque. Une fois ce premier repas pris, et le développement ovarien réalisé, la femelle va déposer ses œufs dans un milieu propice qui est souvent son lieu de repos diurne, caractérisé par un couvert végétal assurant une ombre suffisante. Ces œufs, d'environ 1 mm, éclosent au bout de 24h pour donner des jeunes larves qui vont se transformer en 3 stades. A la fin de ces stades larvaires, les larves vont s'enfouir quelques millimètres dans le sol. Pendant la pupaison, leur tégument va se durcir et former une enveloppe, le puparium renfermant la nymphe qui va ensuite subir des modifications internes jusqu'à l'émergence du jeune imago (Itard et al., 2000). Contrairement aux glossines, les stomoxes ont une longévité relativement courte d'environ 10 à 30 jours, compensée par un cycle de développement plus rapide et la ponte fréquente de plusieurs œufs par femelle. La durée de ce cycle

biologique est inversement proportionnelle à la température. Chez *S. calcitrans*, par exemple, la durée moyenne d'un cycle complet est de 60 jours à 15°C et moins de 12 jours à 30°C. La durée minimale a été observée à 31°C (Lysyk, 1998). En revanche, Sutherland (1979) montre que les températures de plus de 40°C sont létales pour les œufs.

#### III.1.2.f) Régime alimentaire

Les stomoxes ont un sens visuel bien développé et un sens olfactif affiné par des chémorécepteurs de contact (Leclercq, 1971). Le choix de leurs hôtes est fonction de la taille de ces derniers, leur couleur, l'épaisseur de leur pelage et de leur odeur (Harley, 1965; Leclercq, 1971; Schofield & Brady, 1996). Mâles et femelles sont hématophages avec une capacité à s'en prendre à l'homme en absence de leurs hôtes préférés (Hogsette et al., 1981; Mavoungou et al., 2008b). Les hôtes préférentiels de *S. calcitrans* par exemple sont par ordre décroissant d'avantages énergétiques: les ânes, les chevaux, les buffles, les vaches, les chameaux, les moutons et les chèvres (Hafez & Gamal-Eddin, 1959). En plus de ces hôtes, les stomoxes se nourrissent également sur les humains comme cela a été le cas sur les plages de Floride (Hogsette et al., 1981). Les stomoxes attaquent généralement leurs hôtes bovins sur les parties inférieures du corps, où le pelage est fin, les vaisseaux sanguins apparents à la surface et où l'animal a du mal à se défendre à l'aide de sa queue ou ses oreilles (Dougherty et al., 1995). Ces mouches se nourrissent activement de jour (Harley, 1965; Schofield & Brady, 1996) avec des prises de sang pouvant durer de 2 à 30 minutes selon les espèces et les saisons (Kunz & Monty, 1976; Berry & Campbell, 1985; Lysyk, 1995; Schofield & Torr, 2002). Il a été montré en conditions expérimentales que le nombre de stomoxes à la recherche active d'un hôte, la durée du repas et la fréquence des piqûres sont fortement corrélés à la température du milieu (Berry & Campbell, 1985; Lysyk, 1995). Pour la seule espèce *S. calcitrans* par exemple, le nombre d'individus à la recherche d'un repas sanguin est maximal à 30-32°C (Hafez & Gamal-Eddin, 1959; Berry & Campbell, 1985), il diminue nettement au-delà de 34°C et se révèle quasiment nul en dessous de 14°C (Hafez & Gamal-Eddin, 1959; Kunz & Monty, 1976). En cas d'absence d'hôtes dans un milieu, ces mouches hématophages sont capables de parcourir plus de 5 km pour trouver un repas sanguin (Hogsette et al., 1987) ainsi que des conditions plus favorables dans le milieu (Bailey et al., 1979). Dans l'ensemble, les stomoxes prennent plus de la moitié (55%) de leurs repas sanguins sur la

faune sauvage, avec 19% sur les animaux domestiques et seulement 7% sur l'homme (Mavoungou et al., 2008b). Notons tout de même que chez les stomoxes, bien que les deux sexes soient hématophages, le mâle peut se nourrir de nectar (Wall & Shearer, 1997). Comme dans le cas des glossines, l'étude des interactions entre hôtes, vecteurs et parasites, impliquant les habitudes alimentaires des stomoxes constitue un paramètre important pour la compréhension et la conception de modèles prédictifs relatifs à l'émergent et la transmission d'agents infectieux. Au nord du Texas par exemple, Bishopp (1913) notera que les piqûres de stomoxes sur le bétail entraînent une diminution des défenses immunitaires des animaux, facilitant l'expression des agents infectieux. En plus de cette transmission immédiate des agents pathogènes, la prise fréquente des repas sanguins peut constituer un risque de transmission retardée d'agents infectieux par les stomoxes. En effet, il a été montré que les stomoxes pouvaient conserver du sang infecté dans leur jabot, qui offre un environnement favorable pour les agents pathogènes en absence d'enzymes (Lehane, 1987; 1988), avant de les régurgiter chez un autre hôte lors d'un prochain repas sanguin.

#### III.1.2.g] Impact vectoriel

Les stomoxes sont des vecteurs biologiques et mécaniques des agents pathogènes présents dans le sang et tissus cutanés de leurs hôtes (Baldacchino et al., 2013a). En effet, du fait des piqûres douloureuses lors de repas sanguins, les stomoxes sont très souvent interrompus par le comportement défensif de leurs hôtes et sont parfois obligés de changer d'hôtes pour réaliser un repas complet (Zumpt, 1973). Ce type d'alimentation a d'énormes conséquences sur le plan épidémiologique chez les hommes et chez les animaux (Leclercq, 1971; Foil & Gorham, 2000; Baldacchino et al., 2013a). C'est ainsi que ces mouches sont impliquées dans la transmission de divers agents pathogènes (virus, bactéries, protozoaires et helminthes). Ils sont impliqués dans la transmission des virus comme la peste porcine africaine (Plowright et al., 1994; Penrith et al., 2005; Baldacchino et al., 2013a), la fièvre de la vallée du rift (Hoch et al., 1985; De La Fuente et al., 2005; Baldacchino et al., 2013a), l'herpès bovin (Gibbs, 1973; Gibbs et al., 1972; 1973; Baldacchino et al., 2013a), l'anémie infectieuse équine (Macadam, 1977; Issel & Foil, 1984; Issel et al., 1988; Baldacchino et al., 2013a). Eigen et ses collaborateurs (2002) ont émis l'hypothèse de leur possible implication dans la transmission ou le passage du VIH des grands singes à l'homme. A l'exception des

bactéries *Rickettsia*, les stomoxes sont impliqués dans la transmission de diverses bactéries comme l'*Anaplasma marginale* (Foil & Gorham, 2000; Baldacchino et al., 2013a), le *Bacillus anthracis*, agent causal de l'anthrax ou de la fièvre charbonneuse (Chantal, 1997) et le *Dermatophilus congolensis*, agent causal de la dermatophilose (Richard & Pier, 1966; Foil & Gorham, 2000). Ces mouches sont également impliquées dans la transmission de parasites (protozoaires et helminthes) comme *Trypanosoma brucei*, *T. congolense*, *T. vivax* et *T. evansi* (Moutia, 1928; Mihok et al., 1995; D'Amico et al., 1996; Rodriguez et al., 2014) et des *Leishmania sp.* (Foil & Gorham, 2000).

Toute la nuisance faite au bétail, qu'elle soit sonore par le harcèlement que subit ces derniers ou physique par la spoliation sanguine, entraîne naturellement une baisse de production laitière et de viande (Miller et al., 1973; Campbell et al., 1977). En effet, Campbell et ses collaborateurs (1977) ont observé une réduction moyenne de gain de poids de 13 à 20% chez des veaux, qui sont attaqués par 50 à 100 stomoxes par jour. Aussi, une corrélation négative entre l'abondance de *S. calcitrans* et la quantité de lait produite d'une part, et sa teneur en graisse d'autre part a été observée (Bruce & Decker, 1958; Miller et al., 1973). Toutes ces perturbations génèrent des pertes énormes à l'industrie agricole. Ces pertes économiques engendrées par les stomoxes à l'industrie du bétail sont évaluées entre 100 et 400 millions de dollars par an (Kunz et al., 1991; Foil & Hogsette, 1994).

### III.1.3] Tabanides

#### III.1.3.a] Description

Les tabanides sont des grandes mouches trapues, dont la taille varie entre 7 et 25 mm, avec une tête large, bien différenciée du corps, dotée de courtes antennes articulées et de gros yeux verdâtres ou cuivrés (figure 9).

Pour ces mouches principalement diurnes, les yeux sont constitués de 2 grosses boules, qui paraissent reliées chez les mâles alors qu'elles sont séparées par une bande frontale chez les femelles comme sur la photo ci-contre (Teskey, 1990; Mullens, 2002). Ce critère est fondamental dans la distinction mâle-femelle lors des études de



**Figure 9:** Exemple de tabanide (*Tabanus sp.*).

populations. Les yeux jouent un rôle important dans la vie de ces mouches, aussi bien dans la détection des hôtes, le succès reproducteur des mâles, que dans la capacité à trouver un meilleur emplacement pour la ponte des œufs (Horváth et al., 2008; Egri et al., 2012). Les mâles ne sont pas hématophages. Ils se nourrissent d'exsudats ou du nectar des végétaux alors que les femelles ont besoin de sang pour développer leurs ovaires et pour la maturation de leurs œufs (Mullens, 2002). Chez ces dernières, les pièces buccales seront donc plus adaptées à la piqûre (Matyas, 1958).

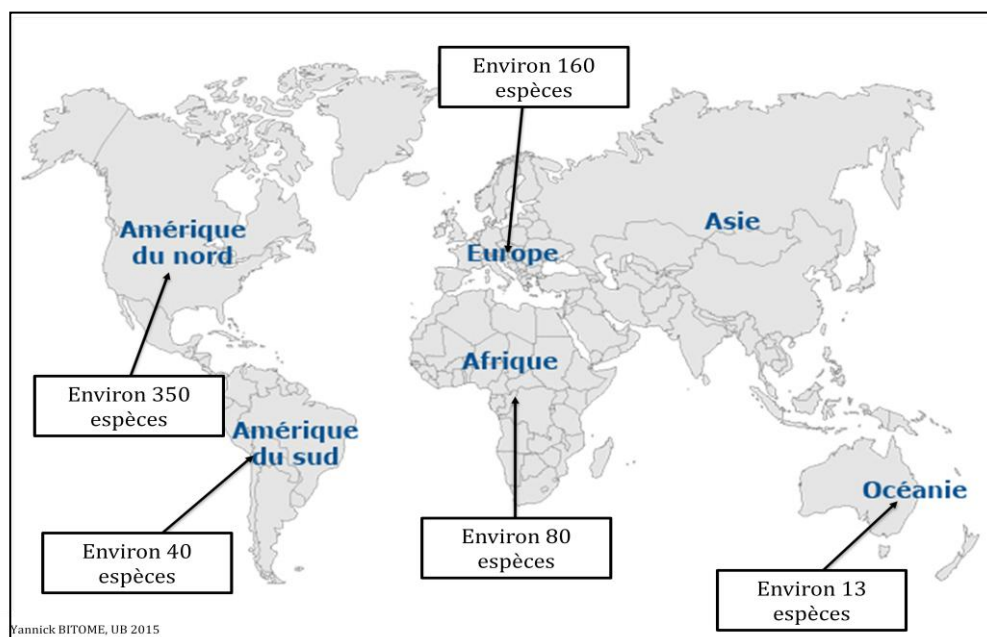
#### III.1.3.b] Classification

Les tabanides sont des diptères appartenant au sous ordre des Brachycères, et constituant la famille des Tabanidae qui comprend 4 400 espèces réparties en 4 sous-familles et 10 tribus (Roskov et al., 2013) : Chrysopsinae (Bouvieromyiini, Chrysopsini, Rhinomyzini) ; Pangoniinae (Mycteromyiini, Pangoniini, Philolichini, Scionini) ; Tabanidae (Diachlorini, Haematopini, Tabanini) et Sceptidinae (Mackerras, 1954; 1955; Coscarón & Philip, 1979; Lessard et al., 2013). A raison de leurs importances médicales, vétérinaires et économiques, seules les sous familles des Chrysopsinae et Tabanidae font l'objet de plusieurs études approfondies (Mullens, 2002). Ainsi, environ 650 espèces appartenant aux genres *Chrysops*, *Tabanus*, *Haematopota* et *Atylotus* (Taufflieb & Finelle, 1956; Strother, 1999; Desquesnes & Dia, 2003; 2004) sont couramment retrouvées à travers le monde.

#### III.1.3.c] Répartition géographique

Communément appelées taons, les tabanides sont des diptères cosmopolites, capables de s'adapter aux habitats tropicaux et tempérés (figure 10).





**Figure 10:** Répartition des espèces de tabanides d'intérêt médical, vétérinaire et économique dans le monde.

En Europe, près de 160 espèces ont été décrites (Baldacchino et al., 2013b), avec notamment en France la présence de *Tabanus bovinus* dont les femelles harcèlent et se nourrissent du bétail dans le sud du pays. En Amérique du nord, Strother (1999) dénombre pas moins de 350 espèces avec une densité relativement importante au Canada où les femelles s'attaquent aux équidés; ce qui leur a valu l'appellation de « mouches à cheval ». En Amérique du sud, environ 40 espèces ont été signalées au Brésil (Bouvier, 1952). En Nouvelle Calédonie, archipel de l'Océanie, une douzaine d'espèces de tabanides ont été rapportées (Rageau, 1964). En 1956, Taufflieb et Finelle parlaient déjà de 80 espèces de tabanides d'intérêt médical et vétérinaire sur le continent africain; nombre qui a probablement évolué de nos jours au vu de l'implication de ces mouches dans la transmission mécanique des pathogènes (Baldacchino et al., 2014).

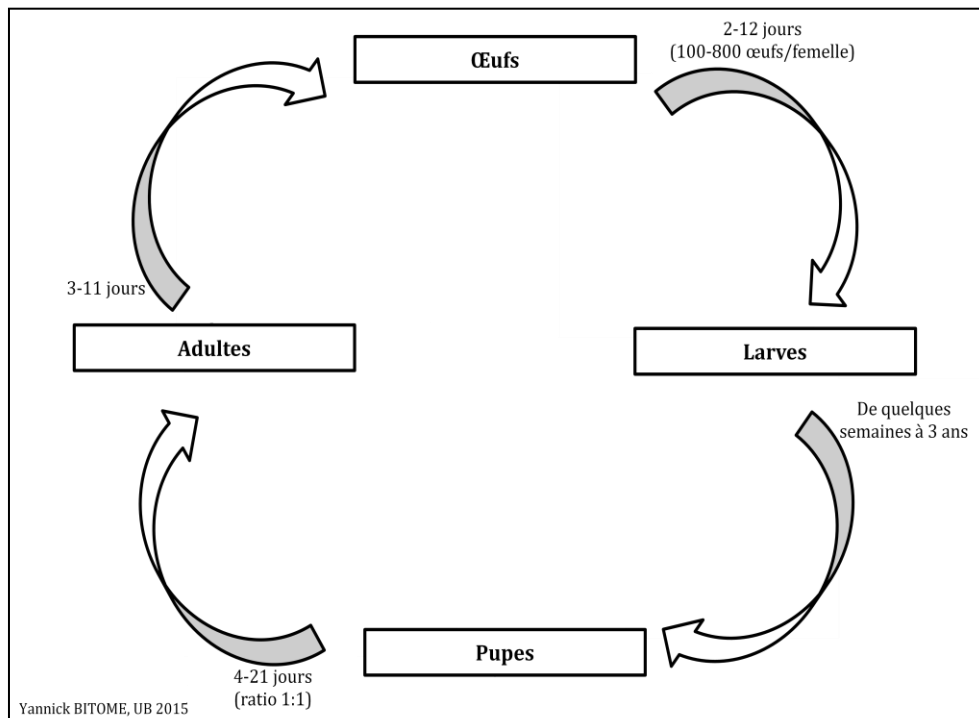
### III.1.3.d] Ecologie

Les tabanides sont des mouches exophiles, c'est-à-dire qu'elles ne rentrent pas dans les habitations comme c'est le cas des moustiques ou des glossines. Leur écologie est très souvent associée aux zones d'élevages et aux milieux boisés (Itard et al., 1963; Taufflieb, 1981). Cependant, cette distribution écologique varie selon les genres et les espèces. Les genres *Tabanus* et *Ancala* sont souvent associés aux milieux forestiers du type forêt secondaire (Harley, 1965; Mavoungou et al., 2012), propices au développement des

marantacées qui attirent une faune sauvage spécifique alors que le genre *Chrysops* est plutôt associé aux milieux anthropisés comme les villages (Mavoungou et al., 2012). Cette distribution des genres peut être liée à l'écologie du type d'hôtes préférés des femelles des différents genres taxonomiques (Mullens & Gerhardt, 1979). Les femelles robustes du genre *Tabanus* et *Ancala* vont se nourrir sur de grands mammifères comme des éléphants, des buffles ou des gorilles, capables de supporter certaines intensités douloureuses des piqûres. A l'inverse, les femelles moins robustes du genre *Chrysops*, par exemple, se nourrissent sur l'homme (Kasbari, 2001).

### III.1.3.e] Cycle biologique

Le cycle biologique des tabanides comprend plusieurs stades: 1 stade œuf, plusieurs stades larvaires, 1 stade pupal et 1 stade adulte (figure 11).



**Figure 11:** Cycle biologique d'un tabanide, avec les différents stades: stade œuf, stade larvaire, pupaison et stade adulte.

Après leur éclosion, les tabanides adultes peuvent se nourrir essentiellement du nectar jusqu'à ce que les femelles soient fécondées, généralement après 3-5 jours (Wilkerson et al., 1985), puis elles vont avoir besoin de repas sanguins pour la maturation de leurs œufs (Mullens, 2002). Une fois ces repas sanguins pris, les œufs vont se développer sur une période de 3 à 11 jours avant que la femelle ne pondre dans un endroit propice,

souvent à l'ombre au bord des cours d'eaux (Andreeva, 1982; Andreeva et al., 2009). Le processus d'embryogenèse qui va suivre nécessite 2 à 12 jours selon les espèces et les conditions climatiques. L'éclosion des œufs est beaucoup plus rapide lorsque l'humidité et la température sont relativement élevées (Mullens, 2002). Les jeunes larves qui en résultent vont alors subir plusieurs mues larvaires, dont la durée peut s'étendre de quelques semaines à 3 ans selon les paramètres climatiques. En zone tropicale, une femelle va avoir 2 à 3 portées par an, alors qu'en zone tempérée ou nordique la portée d'une femelle peut passer 2 à 3 ans au stade larvaire en hibernant à plusieurs reprises. Ces larves vont survivre en se nourrissant activement de vers et de larves d'autres diptères. A la fin de ce long stade, les jeunes pupes en forme d'asticots vont s'enfouir quelques millimètres dans le sol pour entamer la pupaison qui va ensuite les transformer en adultes au bout de 4 à 21 jours. Bien que les mâles émergent plus tôt que les femelles, le sex-ratio est souvent proche de l'équilibre (Chvála et al., 1972). L'activité des tabanides est influencée par de nombreux facteurs: la température, la luminosité et l'humidité. Elle est intense entre 20 et 25°C, et elle est moindre par temps couvert et venteux (Krcmar, 2005). La faible longévité de ces mouches, d'environ 21 jours, associée au cycle biologique relativement long, est compensée par la ponte de plusieurs œufs par femelle (100 à 800 œufs). Grâce à leur robustesse, les jeunes larves qui émergent dans des milieux tempérés ou nordiques, parviennent à survivre et les adultes arrivent à s'adapter aux contraintes hivernales. Pour éviter les grandes pertes d'œufs liées aux montées des lits des rivières, les tabanides adoptent une activité reproductrice saisonnière. Dans les zones tempérées, cette activité se produit durant les mois les plus chauds, correspondant souvent à l'été (McElligott & Lewis, 1998; Baldacchino et al., 2013b). Dans la zone tropicale, cette activité reproductrice atteint généralement des sommets à la fin de la saison des pluies (Okiwelu, 1975; Barros, 2001; Desquesnes, 2004), afin de pondre leurs œufs dès la fin des pluies et profiter de la saison sèche pour leur développement.

#### III.1.3.f] Régime alimentaire

Les tabanides sont des mouches hématophages cosmopolites avec près de 643 espèces réparties un peu partout dans le monde (Rageau, 1964; Strothrer, 1999; Baldacchino et al., 2014). L'étude de leur régime alimentaire est un élément clé dans la compréhension du potentiel rôle vecteur que peuvent jouer ces arthropodes hématophages (Van den

Bossch & Staak, 1997). Cependant, les tabanides représentent le groupe de mouches hématophages le moins étudié dans le monde, malgré leur implication directe ou indirecte dans la transmission d'agents pathogènes chez l'homme et les animaux (Krinsky, 1976; Foil, 1989; Mullens, 2002). A propos de leurs habitudes alimentaires, seules quelques études ont été réalisées aux Etats Unis (Wilson & Richardson, 1969; Magnarelli & Anderson, 1980), en Afrique (Gouteux et al., 1989) et en Australie (Muzari et al., 2010). Chez les tabanides, mâles et femelles se nourrissent de nectar après leur éclosion, et ce n'est qu'une fois fécondée que seule la femelle a besoin de repas sanguins pour la maturation de ses œufs (Mullens, 2002). Dans l'ensemble, les études sur les habitudes alimentaires des tabanides rapportent que ces femelles ne prennent pas préférentiellement leurs repas sanguins sur des hôtes humains, mais sur des animaux domestiques et sauvages comme le cheval, le porc et les bovidés domestiques (Mackerras, 1971; Gouteux et al., 1989; Muzari et al., 2010). En revanche, les humains semblent être les hôtes préférés du genre *Chrysops* avec *Chrysops silacea* et *C. dimidiata* (Gouteux et al., 1989), principaux vecteurs de la maladie des filaires (*Loase*) en Afrique Centrale. Même si ces mouches hématophages ne semblent pas piquer préférentiellement l'homme, leur implication dans la transmission mécanique des trypanosomes suggère qu'elles sont capables de maintenir un foyer actif en absence des glossines (Desquesnes & Davila, 2002; Desquesnes & Dia, 2004). Avec la création de la PATTEC (campagne panafricaine d'éradication de la tsétsé et de la trypanosomiase), le continent africain déploie d'énormes efforts pour éradiquer le vecteur et pour contrôler enfin la THA/TAA, vieilles de plusieurs décennies. Sauf qu'en présence des tabanides, l'éradication des glossines pourrait ne pas être suffisante pour contrôler la maladie, principalement la TAA (Desquesnes & Dia, 2003; 2004).

### III.1.3.g] Impact vectoriel

Comme pour les 2 premiers groupes de diptères présentés, le comportement hématophage des femelles tabanides n'est pas sans impact médical, vétérinaire ou économique. A cause de leurs piqûres douloureuses, les tabanides hématophages vont très souvent être interrompus lors de leurs repas sanguins et pour le compléter, ils vont souvent piquer à nouveau un hôte dans un rayon inférieur à 50 mètres (Foil, 1983; Barros & Foil, 2007). De ce fait, ces mouches représentent un fléau pour l'élevage par leur nuisance directe, mais également par leur rôle de vecteur dans la transmission

mécanique de la TAA (Desquesnes & Dia, 2003; 2004). Comme dans le cas des glossines, les pertes engendrées aux industries agricoles par cette transmission mécanique de la TAA sont énormes. Les tabanides sont également impliqués dans la transmission mécanique de diverses maladies d'équidés. Certains auteurs pensent même que "ces mouches à cheval" pourraient être impliquées, avec les *Culicoïdes spp.*, dans des lourdes pertes économiques causées par la perte de 20 à 30 mille chevaux en Turquie, à Chypre et aux USA entre 1930 et 1960 (Huq, 1961). Aussi, les tabanides sont les vecteurs biologiques des filaires, encore appelées *loase*, en Afrique Centrale. Les principales espèces vectrices de cette maladie, qui sévit de façon aiguë dans la sous-région du bassin du Congo, sont deux espèces du genre *Chrysops* (Gouteux et al., 1989).

### III.2] PRÉSENTATION DES SITES D'ÉTUDES

#### III.2.1] Le Gabon

Le Gabon est un pays situé en Afrique Centrale de part et d'autre de l'équateur, frontalier au nord par le Cameroun, au nord-ouest par la Guinée Équatoriale et à l'est par le Congo-Brazzaville (figure 12). D'une superficie de 267667 kilomètres carré pour 1 534 300 habitants, le Gabon renferme d'importantes ressources forestières, pétrolières et minières qui lui ont permis de se hausser

parmi les pays les plus prospères d'Afrique sub-saharienne. Selon l'Organisation des Nations Unies, le Gabon affiche l'indice de développement humain le plus élevé de la région, disposant du deuxième revenu par habitant derrière la Guinée Équatoriale et devant le Botswana. Le PIB a augmenté de plus de 6 % entre 2010 et 2013. Cependant,



Figure 12: Situation géographique du Gabon.

du fait de l'inégalité dans la répartition des revenus, une proportion importante de la population reste tout de même pauvre.

### III.2.1.a] Principales formations végétales

Pays sous-peuplé du bassin du Congo, le Gabon est essentiellement forestier avec un couvert d'environ 227515 kilomètres carré, l'équivalent de 85% du pays tout entier (Richard & Léonard, 1993). Cette immense couverture forestière englobe tout de même quelques millions d'hectares de savanes, des milliers d'hectares de zones inondées et de mangroves (figure 13).



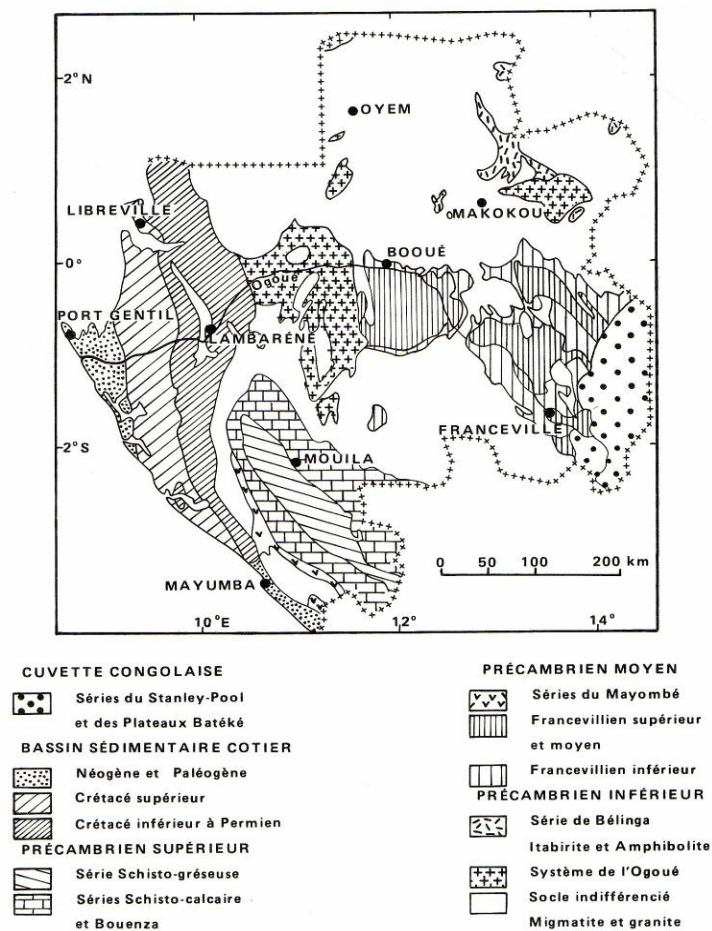
**Figure 13:** Les principales formations végétales du Gabon (Richard & Léonard 1993).

Malgré l'exploitation forestière qui dure depuis 5 décennies, la forêt gabonaise reste l'une des plus riches d'Afrique et du bassin du Congo. Elle renferme plus de 400 essences ligneuses, dont seulement une trentaine sont actuellement exploitées. Parmi les quelques essences exploitées, l'Okoumé (*Aucumea klaineana*) représente 85% des exploitations. Cette espèce, qui colonise plus de 75% du territoire national, se régénère assez bien sur des périodes de 15 à 20 ans. De ce fait, le Ministère gabonais de l'Economie forestière estime que le pays regorge plus de 180 000 Km<sup>2</sup> de réserves exploitables. Par ailleurs, pour conserver cette forêt et la biodiversité qu'elle renferme, le

gouvernement gabonais a décidé de créer 13 parcs nationaux en 2002, préservant près de 11% du territoire national.

### III.2.1.b] Reliefs et saisons climatiques

Le Gabon est constitué à plus de 75% de formations géologiques précambriennes qui se subdivisent en trois ensembles (Collinet & Forget, 1976; Martin et al., 1981): le précambrien inférieur, composé d'ectinites, de migmatites et de granites; le précambrien moyen caractérisé par la prédominance de formations détritiques peu ou non métamorphiques et le précambrien supérieur qui débute par des formations glaciaires suivies d'importants dépôts de séries calcaires et gréseuses non métamorphiques (figure 14).



**Figure 14:** Carte géologique du Gabon (Martin et al. 1981).

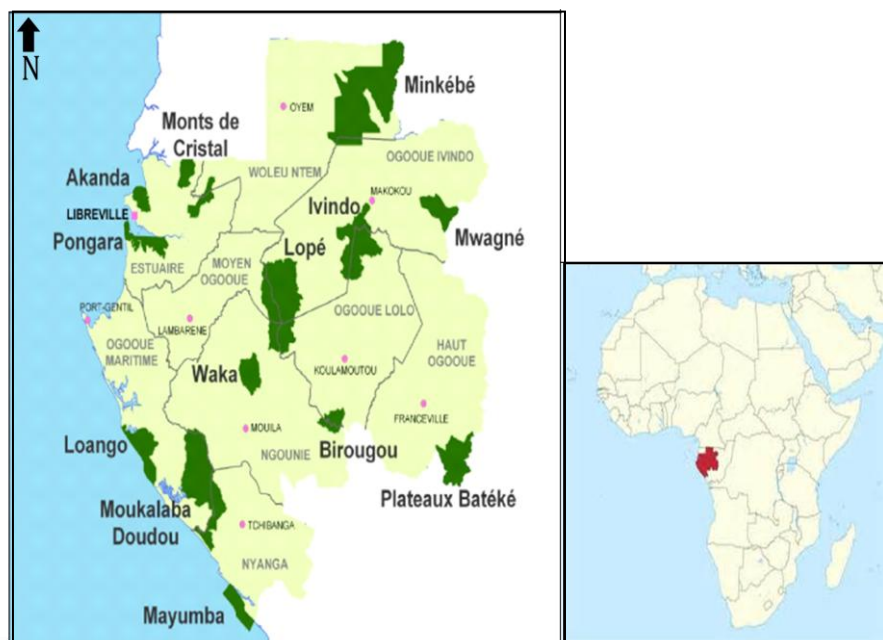
Ces formations géologiques permettent de diviser le Gabon en plusieurs types de reliefs (Martin et al., 1981). Les plateaux du nord-est, situés sur une roche granitique, se trouvent entre 500 et 700 mètres d'altitude. Leur relief est brisé par quelques inselbergs

(région d'Oyem) et les massifs d'itabirite (minerai de fer) de Belinga-Mekambo. Le bassin sédimentaire côtier, issu des formations du secondaire, tertiaire et du quaternaire (Dupuy et al., 1998), est dans l'ensemble aplani en dessous de 200 mètres d'altitude. L'est et le sud du pays sont formés de plateaux sur schistes et grès (Dupuy et al., 1998). Les montagnes sont constituées essentiellement des monts de Cristal au nord du pays (avec plus 800 m d'altitude), la chaîne de Mayombe et le massif du Chaillu au sud, le mont Iboundzi, le mont Brazza et le mont chauve au centre.

Le climat du Gabon est de type équatorial, chaud et humide avec des pluviométries annuelles variant entre 1 500 et 3 000 mm (Martin et al., 1981). Ce climat est caractérisé par une double alternance de saisons, comprenant 2 saisons de pluies et 2 saisons sèches. La petite saison de pluie s'étend de mi septembre à mi décembre, elle est caractérisée par des pluies fréquentes à faible intensité et s'accompagnent souvent de plusieurs inondations. Elle est suivie par la petite saison sèche de mi décembre à mi février, qui se caractérise tout de même par de faibles pluies ponctuelles, mais avec des températures relativement plus élevées que durant la précédente saison. La grande saison des pluies débute autour du mois de mars et peut s'étendre jusqu'à fin mai. Cette saison est marquée par de fortes pluies, avec parfois des orages et des températures comprises entre 27 et 35°C. Et enfin, la grande saison sèche débute en juin et se termine en septembre. Elle est caractérisée par un ciel souvent couvert, avec des matinées relativement fraîches.

### III.2.2] Les parcs du Gabon

Dans le but d'apporter sa modeste contribution au problème mondial lié à la conservation de la biodiversité, et aussi pour diversifier son économie en développant l'écotourisme, le gouvernement gabonais a décidé en 2002 de créer 13 parcs nationaux dont la superficie totale correspond à 11% du territoire national.



Yannick BITOME, UB 2015

Figure 15: Carte des 13 parcs nationaux du Gabon.



Notre étude a eu lieu dans 3 des 13 parcs nationaux, à savoir: le parc national de l'Ivindo au nord est du Gabon, celui de Moukalaba-Doudou au sud ouest du pays et le parc national de la Lopé au centre, inscrit au patrimoine mondial de l'UNESCO et dans un parc privé au sud-est du pays, le parc de la Lékédi.

#### III.2.2.a] Parc national de l'Ivindo (PNI)

Avec ses 3000 Km<sup>2</sup>, le parc national de l'Ivindo, essentiellement forestier, est situé dans la province de l'Ogooué-Ivindo au nord-est du Gabon. Il abrite la réserve naturelle intégrale d'Ipassa, site MAB (UNESCO), qui a été durant 20 ans l'un des premiers sites de recherche sur l'écologie des forêts tropicales du bassin du Congo. Ce parc abrite une biodiversité riche, caractérisée par la présence de plusieurs espèces de grands mammifères dont les éléphants (*Loxodonta africana cyclotis*), les buffles (*Syncerus caffer*), les gorilles de l'ouest (*Gorilla gorilla*), les antilopes (*Tragelaphus spp.*) et les céphalophes (*Cephalophus spp.*). L'avifaune y est également bien représentée (Vande-Weghe, 2012). Ce parc offre également des paysages exceptionnels avec la présence des plus grandes et des plus spectaculaires chutes d'eaux d'Afrique Centrale: les chutes de Kongou et de Mingouli. Aussi, le baï de Langoué au sud du parc est un endroit propice à l'observation touristique des grands mammifères et aussi des antilopes comme le Sitatunga.

#### III.2.2.b] Parc national de Moukalaba-Doudou (PNMD)

Troisième plus grand parc du Gabon avec 4500 Km<sup>2</sup>, le parc national de Moukalaba-Doudou est situé dans la province de la Nyanga au sud-ouest du pays, et caractérisé par une végétation forestière parfois interrompue par des petites mosaïques de savane. Comme celui de l'Ivindo, le parc national de Moukalaba-Doudou abrite une biodiversité riche, caractérisée par de grandes populations de chimpanzés (*Pan troglodytes*), trois espèces de crocodiles d'Afrique dont le crocodile du Nil (*Crocodylus niloticus*), des hippopotames (*Hippopotamus amphibius*) et le Cobe Defassa (*Kobus ellipsiprymnus*), unique de cette région du Gabon (Vande-Weghe, 2012). L'avifaune y est également bien représentée, avec une panoplie exceptionnelle de 380 espèces d'oiseaux dont l'euplecte monseigneur (*Euplectes hordeaceus*) et le fameux picatharte du Cameroun (*Picathartes oreas*). Traversée par l'immense chaîne de montagnes des monts-doudou, qui part du nord-ouest du Gabon jusqu'au Congo, ce parc de Moukalaba-Doudou renferme aussi un fort potentiel touristique. On y retrouve un groupe de gorilles habitués (groupe gentil),

que les chercheurs peuvent observer à moins de 20 mètres de distance, et deux autres groupes en cours d'habituatation.

#### III.2.2.c] Parc national de la Lopé (PNL)

Classé au patrimoine mondial de l'UNESCO, le parc national de la Lopé est le deuxième plus grand du Gabon derrière celui de Minkébé. Situé au centre du pays, ce parc présente des écosystèmes variés avec une mosaïque forêt-savane. Il est surtout connu pour sa grande richesse floristique (White & Abernethy, 1996), et aussi pour sa faune qui est presque aussi riche que celle des 2 premiers parcs, avec des grandes populations de mandrills. La présence, en plein milieu du parc, d'une station de recherche du Centre International de Recherche Médicale de Franceville (CIRMF) facilite les observations de la faune sauvage. Le site de Mikongo au sud du parc, autrefois géré par la *Zoological Society of London* (ZSL), abrite quelques groupes de gorilles semi-habitués. La présence également du Mont-Brazza et Mont-Chauve, associée à l'infrastructure hôtelière (Lopé-Hôtel) aux normes internationales, font de ce parc le plus connu et le plus visité du Gabon.

#### III.2.2.d] Parc de la Lékédi (PL)

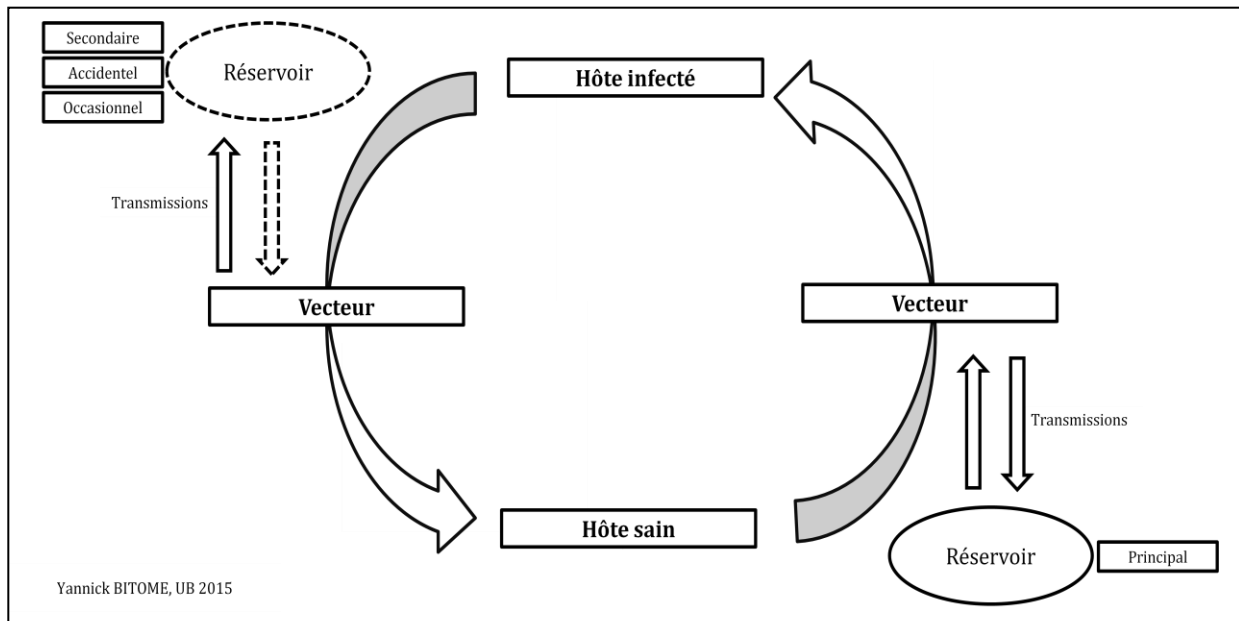
Le parc de la Lékédi, géré par la SODEPAL (Société d'exploitation du Parc de la Lékédi), est un parc privé situé à Bakoumba dans la province du Haut-Ogooué au sud-est du Gabon, à 100 Km de Franceville. Au début de l'exploitation du Manganèse, la société COMILOG (actuelle filiale du groupe ERAMET) transportait le minerai de Moanda (située entre Franceville et Bakoumba) vers le port en eau profonde de Pointe-Noire au Congo par un téléphérique de 76 km de long, avec un centre de maintenance à Bakoumba. La sécurisation de la zone du téléphérique a constitué un lieu de refuge pour la biodiversité animale, qui était chassée partout ailleurs dans la région. Avec la construction d'un port à Libreville et le développement du chemin de fer, le téléphérique est stoppé en 1991 et la société minière décide de créer ce parc pour conserver quelques emplois et diversifier son activité. A l'exception de quelques grands mammifères comme les éléphants, ce parc abrite une faune riche, caractérisée par de fortes densités de buffles, d'antilopes et de céphalophes. Le développement de la pisciculture dans le parc a entraîné de fortes concentrations de reptiles autour des étangs tels que les pythons observés régulièrement et le Faux-gavial d'Afrique. La présence d'un groupe de mandrills habitués

et les infrastructures (plusieurs villas des anciens cadres du téléphérique), font de ce parc un endroit touristique idéal.

### **III.3] OBJECTIF GÉNÉRAL ET OBJECTIFS SPÉCIFIQUES**

#### **III.3.1] Objectif général**

Depuis la signature de la convention internationale sur la biodiversité au sommet de Johannesburg en 2002, la protection des espèces animales et végétales est devenue un enjeu majeur qui appelle à la prise de conscience collective et à la mise en place des politiques de conservation plus efficaces. Au Gabon, un réseau de 13 parcs nationaux a été mis en place en septembre 2002. Pour lutter contre le braconnage, ces parcs sont protégés par des éco-gardes et des militaires qui patrouillent régulièrement dans les plus sensibles comme celui de Minkébé qui connaît une forte pression de braconnage venant du Cameroun et du Congo voisin. Associée à l'activité de recherche scientifique et la pratique d'écotourisme dans certains parcs, cette forme d'anthropisation des milieux forestiers peut entraîner l'augmentation des contacts entre les humains et la faune sauvage avec pour conséquences des échanges possibles d'agents pathogènes en présence de vecteurs (Epstein et al., 1993; Taylor et al., 2001; Wolfe et al., 2005). Ce mode de transmission, souvent passé au second plan (Carn, 1996), se révèle aujourd'hui déterminant et doit être reconsidéré dans les différentes luttes anti-vectorielles. Ainsi, l'identification des différentes espèces des mouches hématophages dans ces parcs nationaux et la connaissance de leur répartition spatio-temporelle peuvent se révéler utiles dans le contrôle des trypanosomes en particulier, mais aussi d'autres agents pathogènes susceptibles d'être transmis par ces vecteurs. Par ailleurs, le cycle de transmission d'une maladie vectorielle faisant généralement intervenir 3 principaux acteurs: le parasite (hôte infecté), le vecteur et l'hôte sain (Rodhain & Perez, 1985), connaître les habitudes alimentaires des différentes espèces de vecteur permettrait de prédire d'éventuels scénarii de transmission d'agents pathogènes (figure 16).



**Figure 16:** Cycle de transmission d'une maladie vectorielle.

En outre, la notion de réservoir peut être très complexe selon l'agent pathogène et l'espèce d'hôtes concernée. Dans certains cas d'études épidémiologiques incluant la faune sauvage ou domestique, le fait de visualiser par méthode PCR (Amplification en chaîne par polymérase) ou même d'isoler un germe de pathogènes chez quelques individus d'une espèce, a tendance à faire de cette espèce le réservoir du pathogène identifié alors que plusieurs paramètres tels que le taux de parasitémie, montrent que cette conception du réservoir peut être discutable. Desquesnes et ses collaborateurs (2009) montrent que le taux de parasitémie des trypanosomes peut progressivement diminuer chez certaines espèces d'hôtes où il a été détecté à un moment donné et finit par disparaître complètement. C'est le cas de la chèvre qui, contrairement aux chameaux et autres bovidés domestiques, peut constituer une véritable impasse pour *Trypanosoma vivax* (Desquesnes et al., 2009). D'autres études rapportent que certains agents pathogènes (multi-hôtes) peuvent exploiter plusieurs hôtes vertébrés, dont certains ne sont que des hôtes intermédiaires et pas des vrais réservoirs de ces agents infectieux (Bitter et al., 1998; Hahn et al., 1998; Williams et al., 2002; Pedersen et al., 2007). Comme le suggéraient Toma et ses collaborateurs (1991), il convient donc de considérer les notions de réservoir principal, secondaire, accidentel et occasionnel (figure 16). Pour cela, il est nécessaire de développer des nouvelles techniques de détection et de surveillance de la faune sauvage afin de prévenir d'éventuels risques de recrudescence de maladies parasitaires et d'émergence ou réémergence de maladies infectieuses.

### III.3.2] Objectifs spécifiques

#### III.3.2.a] Ecologie et abondance des mouches hématophages

L'identification des espèces de mouches, l'estimation des densités de leurs populations et l'étude de leur distribution écologique est d'une importance capitale dans l'évaluation des risques de transmission des zoonoses dans les milieux sauvages. Cependant, peu de connaissances sont disponibles sur la phénologie de ces mouches hématophages et les facteurs qui régulent leurs dispersions en Afrique Centrale. A l'aide des pièges visuels, nous les avons échantillonnées dans cinq biotopes (forêt primaire, forêt secondaire, camp de recherche, savane et village) caractéristiques de certains parcs nationaux du Gabon. L'ensemble de ces biotopes suivait un gradient d'anthropisation, allant du milieu anthropisé (village) vers les milieux sauvages. Les captures de mouches ont été menées durant deux ans afin d'échantillonner dans les différentes saisons climatiques du pays: petite saison des pluies du 15 septembre au 15 décembre, petite saison sèche du 15 décembre au 15 mars, grande saison des pluies du 15 mars au 15 juin et la grande saison sèche du 15 juin au 15 septembre. Le but de cette stratégie d'échantillonnage est d'identifier dans un premier temps les différentes espèces de mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) retrouvées dans ces biotopes, et dans un second temps de regarder les facteurs écologiques et climatiques qui influencent leur abondance et leur distribution (voir chapitre I).

#### III.3.2.b] Ecologie alimentaire des mouches hématophages

Une meilleure compréhension des interactions entre hôtes, vecteurs et parasites, en particulier la connaissance des habitudes alimentaires, constitue un élément important dans la compréhension des risques de transmission de maladies (Milligan & Baker, 1988; Rogers, 1988). Bien que certains auteurs aient pensé que le comportement alimentaire de certains arthropodes hématophages comme les glossines était génétiquement déterminé (Buxton, 1955; Weitz & Jackson, 1955; Weitz & Glasgow, 1956), les arthropodes hématophages peuvent être opportunistes sur le plan alimentaire et choisir leurs hôtes selon leur disponibilité dans le milieu (Allsopp et al., 1979; Gouteux et al., 1982; Dagnogo et al., 1985; Laveissière et al., 1985). Parmi les plus opportunistes, *Glossina palpalis palpalis*, se nourrit sur le premier hôte disponible sur son chemin (Moloo, 1993; Gouteux & Jarry, 1998; Kohagne et al., 2010). La détermination des hôtes chez les glossines est encore parcellaire et peu de données existent en Afrique Centrale,

du moins dans les milieux naturels. Pour quantifier le régime alimentaire des mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) dans les parcs du Gabon nous avons capturé ces insectes à l'aide de pièges visuels dans cinq biotopes (forêt primaire, forêt secondaire, camp de recherche, savane et village) caractéristiques de quelques parcs du Gabon (voir chapitre II). Après identification, ces mouches hématophages ont été disséquées afin d'extraire les repas sanguins qui seront ensuite analysés à l'aide de techniques de biologie moléculaire pour en identifier l'origine.

### III.3.2.c] Criblage des agents infectieux à partir des repas sanguins

Une des hypothèses expliquant l'émergence des maladies telles que le virus du Nil occidental, ou la réémergence des maladies comme la fièvre hémorragique Ebola concerne l'existence d'un réservoir animal (Daszak et al., 2000; AbuBakar et al., 2004; Jones et al., 2008). Certains de ces réservoirs sont connus, d'autres pas encore en raison de la complexité des agents pathogènes, notamment les agents infectieux à multi-hôtes. Il est donc crucial de pouvoir effectuer une veille des réservoirs potentiels consistant à échantillonner régulièrement les animaux sauvages. Or beaucoup de ces animaux ont un statut de conservation ne facilitant pas leur manipulation et sont par ailleurs de plus en plus cantonnés dans des zones protégées. Dans ce travail, nous tentons d'utiliser les repas sanguins de mouches hématophages afin d'y détecter des agents pathogènes circulant dans la faune sauvage (voir chapitre III). Des études similaires ont été effectuées pour étudier le comportement alimentaire des arthropodes hématophages (Kent, 2009; Muturi et al., 2011; Schnell et al., 2012), mais très peu ont regardé les agents pathogènes que peuvent héberger ces hôtes vertébrés. L'omniprésence des mouches hématophages dans les écosystèmes forestiers et leurs régimes alimentaires variés font d'eux de bons outils pour l'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage. Cette étude expérimentale sera limitée dans un premier temps à la recherche de quelques agents pathogènes connus dans la région prospectée, notamment les trypanosomes, les plasmodiums et quelques phlébovirus dont nous disposons des protocoles d'analyses moléculaires. En considérant les notions de réservoir principal, secondaire, accidentel et/ou occasionnel, nous passerons au crible tous les échantillons de repas sanguins dont les hôtes vertébrés ont été identifiés et aussi une centaine d'échantillons dont les hôtes n'ont pas pu être identifiés.

### III.4] MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les mouches hématophages étudiées lors de ce travail ont été capturées à l'aide de trois types de pièges (Vavoua, Nzi et piège humain) correspondant à des pièges essentiellement visuels. Les pièges visuels sont utilisés en Afrique depuis 1930 dans le cadre de la lutte contre la trypanosomiase humaine et animale (Harris, 1930). Contrairement à l'utilisation des pesticides chimiques parfois toxiques et coûteux (Biaou et al., 2002), la capture des mouches hématophages à l'aide de simples pièges visuels ou associés aux substances olfactives a toujours été considérée comme la technique de lutte anti-vectorielle la moins polluante des écosystèmes forestiers (Amsler & Filledier, 1994; Itard, 2000).

La mise au point d'un type de piège est permise grâce à l'observation du comportement de l'insecte et à des expérimentations scientifiques qui, la plupart du temps, permettent d'améliorer le rendement des captures. Dans le but d'améliorer sans cesse ces rendements, plusieurs pièges vont être progressivement confectionnés (Laveissière & Grébaut, 1990; Foil & Hogsette, 1994; Mihok, 2002). Dans les pays où sévissent la THA et TAA, les captures de mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) a longtemps reposé sur l'utilisation des pièges destinés à la capture des glossines (Laveissière & Grébaut, 1990; Amsler & Filledier, 1994; Gilles et al., 2007). Plusieurs pièges vont être testés et mis en place pour la capture des tabanides (Foil & Hogsette, 1994), jusqu'à la mise en place au Kenya du piège Nzi qui va se révéler efficace aussi bien pour les tabanides que pour les glossines et les stomoxes (Acapovi et al., 2001; Mihok, 2002). Les captures à l'aide de ces différents pièges nous renseignent sur les densités de vecteurs et nous permettent d'évaluer les risques de transmission de maladies dans les milieux prospectés.

En revanche, le fait de capturer des mouches hématophages infectées aux agents pathogènes humains n'implique pas systématiquement un risque de transmission de maladies, car il faut qu'elles piquent l'homme par la suite. En effet, l'évaluation du véritable risque de transmission vectorielle reste difficile à quantifier en condition naturelle. La méthode la plus utilisée dans le cas de lutte contre le paludisme est la capture sur homme, qui fournit le nombre de piqûres auxquelles ce dernier est exposé en moyenne et le statut infectieux des vecteurs (Mathenge et al., 2005). Cependant en termes d'exécution, cette méthode est très laborieuse et dépend fortement de l'habileté

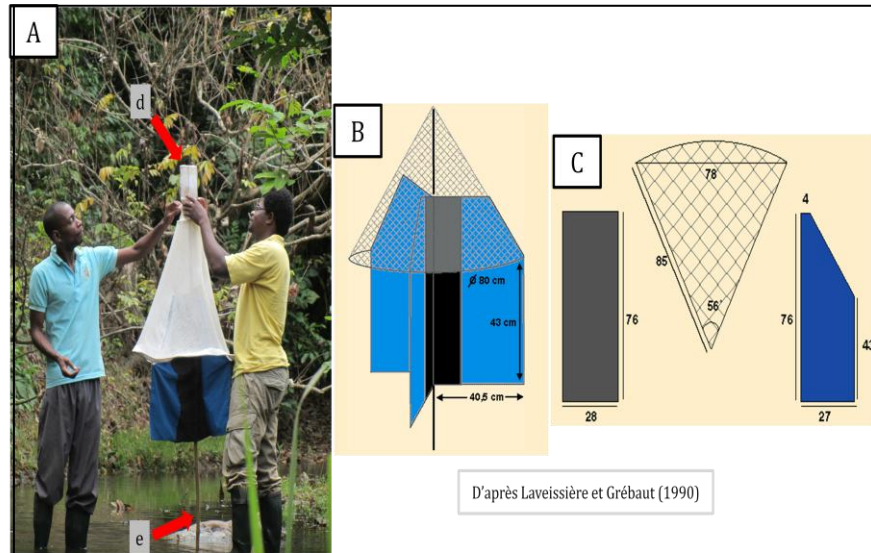
des collecteurs. Aussi, l'exposition délibérée des volontaires humains à des piqûres d'arthropodes vecteurs peut soulever quelques questions d'éthique face à cette technique, d'autant plus que ces maladies n'ont pas encore de vaccins.

### III.4.1] Piège Vavoua

Inspirés du piège de Gouteux et Lancien (1986), Laveissière et Grébaut (1990) ont construit un piège beaucoup plus simple dénommé Vavoua, dans un village de Côte d'Ivoire qui donnera son nom au piège (figure 17).

Ce piège a été conçu essentiellement pour la capture des glossines (Laveissière & Grébaut, 1990), en tenant compte des études comportementales de ces

mouches hématophages et des résultats obtenus sur l'ensemble des précédentes études de captures. Le piège Vavoua est fixé au sol à l'aide d'un piquet en bambou qui traverse l'intérieur du piège et ressort au-dessus du cône en tulle de moustiquaire, au bout duquel est accroché le récipient de collecte. Le cône en tulle de moustiquaire, formé à la base d'un cercle en fil de fer galvanisé, surmonte 3 écrans larges de 81 centimètres, fixés avec un angle de 120° entre eux. La partie externe de chaque écran est constituée de 2 bandes bleues de 27 centimètres de large, qui ont pour but d'attirer les glossines lorsque les rayons du soleil frappent à la surface. Le centre de l'écran est une bande rectangulaire noire de 28 x 76 centimètres car les glossines perçoivent cette couleur noire comme étant la peau du vertébré et sur laquelle elles vont se poser et multiplier les tentatives de piqûres. Comme les glossines ont tendance à voler en direction du soleil, à leur décollage elles volent vers le tulle en moustiquaire et finissent généralement dans le récipient de collecte. Ce piège Vavoua va également s'avérer efficace pour la capture des stomoxes à l'île de la Réunion (Gilles et al., 2007) et lors de nombreuses autres captures de stomoxes (Mavoungou et al., 2008a).



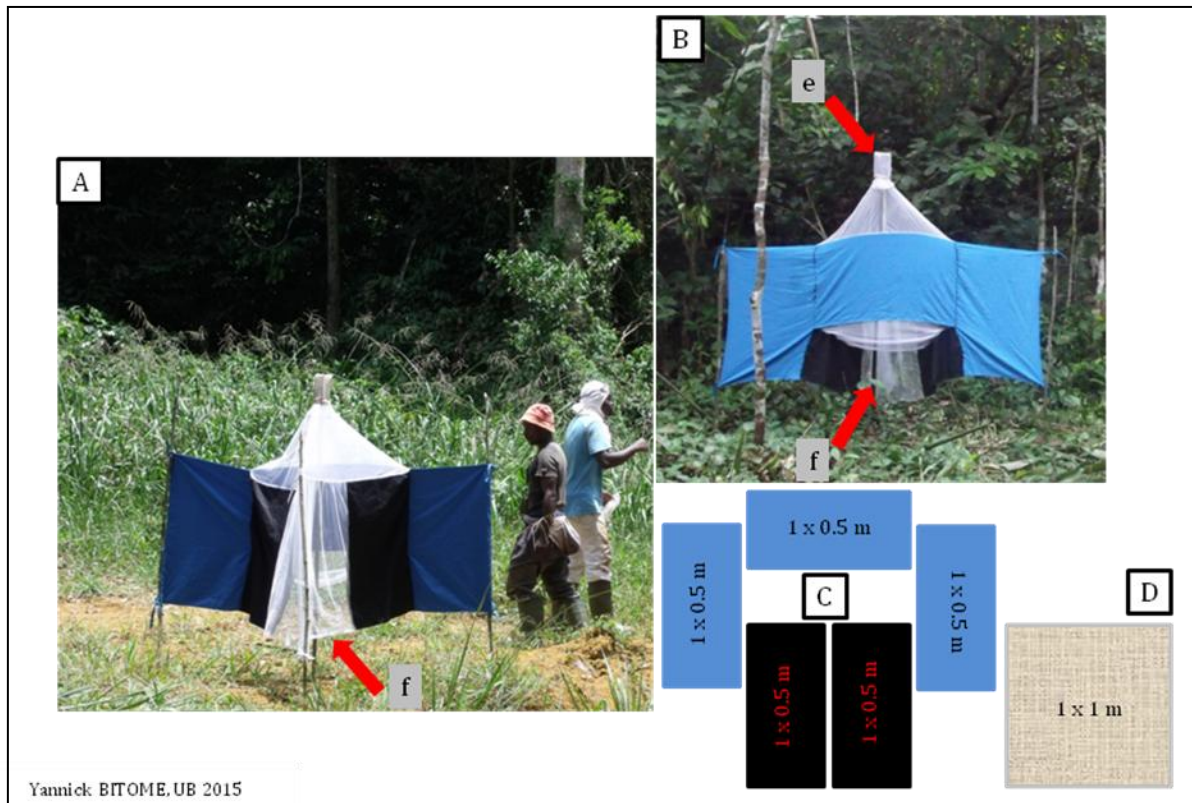
Yannick BITOME, UB 2015

**Figure 17:** A: activation du piège Vavoua (d=récipient de collecte de mouches capturées; e=piquet de fixation du piège); B: schéma d'un piège Vavoua vu sur 2 des 3 écrans (avec au-dessus le cône en tulle moustiquaire); C: les différentes mesures en centimètres.



### III.4.2] Piège Nzi

Parmi tous les pièges visuels, le Nzi semble être le plus efficace pour la capture des tabanides. Il a fait ses preuves partout dans le monde, en Afrique, en Europe, en Amérique et en Australie (Mihok, 2002; Mihok et al., 2006; Van Hennekeler et al., 2008; Baldacchino et al., 2013b).



**Figure 18:** A : Piège Nzi : A= vue de l'arrière ; B= vue de face, e= récipient de collecte de mouches capturées et f= ouvertures permettant l'entrée de mouches; C= schémas des mesures des différentes parties (bandes en tissus) du piège ; D= partie en moustiquaire.

Le piège Nzi a été développé au Kenya pour être polyvalent à la capture des trois groupes taxonomiques de mouches hématophages étudiés dans ce travail (Mihok, 2002). A cet effet, plusieurs configurations et combinaisons du type et de la couleur des tissus ont été élaborées afin d'identifier les caractéristiques, la conception et les matériaux qui donnent lieu à des captures équitables des glossines, stomoxes et tabanides. Comme dans le cas du piège Vavoua précédent, le constructeur du piège Nzi réalisera très vite que les couleurs bleues et noires sont les plus adaptées à la conception de ce type de piège. Mihok (2002) va utiliser le même principe, les mêmes matériaux et couleurs que le piège Vavoua. Attirées par la couleur bleue, les mouches se posent généralement sur la

couleur noire du piège. Il va concevoir un piège plus grand que Vavoua, avec trois énormes panneaux bleus rectangulaires de 1 x 1 mètre, qui ont pour but d'être visible et d'attirer des mouches hématophages à des distances de 10 à 15 mètres (Vale, 1974b). Aussi, les 2 panneaux noirs rectangulaires, de mêmes mesures que les bleus, sont placés en arrière-plan (vue de face) pour attirer les mouches vers l'intérieur du piège. L'ouverture est relativement basse pour correspondre à la hauteur de pose des différentes espèces et sexes des mouches hématophages. Les espèces de mouches de glossines par exemple, se pose sur le piège à une hauteur de 55 à 70 centimètres du sol (Salou et al., 2012); avec très souvent les femelles qui se posent plus bas que les mâles. Cette conception et la configuration proposée ici vont s'avérer efficace pour la capture des glossines, avec un accent particulier sur *Glossina pallidipes* (Mihok, 2002). Ce piège sera également efficace pour la capture de stomoxes et très efficace pour la capture des tabanides (Mihok, 2002).

#### III.4.3] Piège humain

Confectionné lors de notre dernière année d'étude de terrain, le piège humain a été minutieusement pensé et conçu pour évaluer l'attraction vers l'homme des mouches hématophages dans un milieu relativement riche en faune sauvage. Ce piège a été construit pour abriter un appât humain entièrement protégé de piqûres à l'aide d'une double moustiquaire en forme de case rectangulaire (figure 19).



**Figure 19:** Le piège humain, constitué d'une double moustiquaire avec un appât humain intégralement protégé de piqûres.

Fixé sur 4 cotés, le piège humain est constitué de 2 cases rectangulaires en moustiquaire. L'appât humain est intégralement protégé dans la case intérieure de 2 mètres de long sur 0.6 mètre de large. La case extérieure de 1.4 mètres en vertical et 2 mètres en horizontal, fait avec la première une ouverture de 0.6 mètre de hauteur pour laisser entrer les mouches hématophages. Après avoir multiplié les tentatives de piqûre sur l'appât, en vain, les mouches qui entrent dans le piège volent souvent en direction du haut et finissent dans les angles supérieurs de la case moustiquaire extérieure. Les mouches sont collectées toutes les 2h pour éviter qu'elles se fatiguent et tombent ou qu'elles attirent les fourmis. L'utilisation de ce piège a été très brève lors de ce travail de thèse, mais nous souhaitons l'explorer d'avantage lors de nos captures ultérieurs. L'intérêt d'une telle étude est de regarder le comportement alimentaire vis à vis de l'homme, de mouches hématophages ayant déjà pris un repas sanguin animal. Ces résultats pourront nous renseigner d'avantage sur le risque de transmission d'agents infectieux zoonotiques et aussi sur les différentes espèces de mouches hématophages qui sont réellement impliquées dans cette transmission.

#### III.4.4] Substances olfactives

Jusque dans les années 1970, il a été largement admis que les mouches hématophages, particulièrement les glossines, ne trouvaient leurs hôtes nourriciers que par leur vue. Leurs grands yeux composés et le nombre relativement important de mouches souvent capturées dans les pièges ont longtemps consolidé cette approche (Buxton, 1955). D'autres études vont montrer par la suite que 90% des glossines sont attirées vers un hôte fixe rien que par l'odorat (Vale, 1974a), et ce n'est qu'à une distance d'environ 10 à 15 mètres que les stimuli visuels entrent en jeu (Vale, 1974b). La simple odeur corporelle de l'hôte, sa respiration (CO<sub>2</sub>) ou sa transpiration semblent être les principaux moteurs d'attraction des mouches hématophages. Un des résultats des nombreuses études effectuées sur les habitudes alimentaires de plusieurs arthropodes hématophages vecteurs de maladies: le moustique *Anopheles* (Mukabana et al., 2002a; Mwangangi et al., 2003; Parida et al., 2006), le moustique *Culex* (Mboera & Takken, 1999; Lee et al., 2002; Zinser et al., 2004), le moustique *Aedes* (Richard et al., 2004; Ponlawat & Harrington, 2005), le phlébotome (Bongiorno et al., 2003; Svobodova et al., 2003), les simulies (Hunter & Bayly, 1991; Boakye et al., 1999), *Culicoides sp.* (Tempelis & Nelson, 1971; Blackwell et al., 1994), la glossine (Snow et al., 1988; Clausen et al., 1998; Spath,

2000; Njiokou et al., 2004), le stomoxe (Harley, 1965; Leclercq, 1971; Mavoungou et al., 2008b), le tabanide (Magnarelli & Anderson, 1980; Gouteux et al., 1989; Muzari et al., 2010) a été de mettre en place des substances olfactives aux odeurs similaires de celles des différents hôtes préférés de ces arthropodes afin d'améliorer leur taux de captures dans les pièges (Amsler & Filledier, 1994; Green, 1994).

Le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), l'acétone, l'octénol ou le phénol peuvent être utilisés comme substances olfactives pour améliorer les rendements des captures des pièges visuels. Un mélange simultané d'acétone, d'octénol et de phénol augmente de 5 fois l'attractivité des glossines dans les pièges Vavoua et Nzi (Torr et al., 1997; Torr et al., 2006). Aussi, de fortes doses de CO<sub>2</sub> et d'acétone augmentent également de 5 à 6 fois les captures de glossines qu'avec un simple piège visuel (Vale, 1980; Green, 1994). L'attractivité des tabanides dans les pièges à glossines augmente de façon considérable lorsque le piège est associé aux substances olfactives méta-crésol/octénol (Amsler & Filledier, 1994; Baldacchino et al., 2013c; 2013d). Le piège Nzi est un piège polyvalent, qui capture relativement bien les trois groupes de mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) étudiés dans ce travail. L'efficacité de ce piège augmente de 90% lorsqu'il est appâté à l'acétone ou à l'octénol (Baldacchino et al., 2013c; 2013d).

#### III.4.5] Méthodes de biologie moléculaire

Jusqu'à un passé récent, l'analyse des repas sanguins provenant d'arthropodes hématophages se faisait à l'aide des techniques sérologiques, des tests parasitologiques d'Elisa ou à l'aide de simples PCR (Clausen et al., 1998; Mukabana et al., 2002b; Kohagne et al., 2010; Muturi et al., 2011; Simo et al., 2012b). Certains auteurs ont effectué des PCR avec plusieurs marqueurs d'ADN dont les gènes cytochrome b et cytochrome oxydase 1 (COI), et des amorces universelles (Kocher et al., 1989; Muturi et al., 2011); pendant que d'autres utilisaient des PCR-RFLP et des PCR hétéroduplex (Njiokou et al., 2004; 2006; Farikou et al., 2010; Njitchouang et al., 2010). Cependant, l'identification de ces repas sanguins nécessitait la constitution d'une base de données préalable, à laquelle les différents résultats étaient comparés. Cette base de données comprenait des collections de gibiers d'animaux sauvages récupérés sur les marchés et quelques tissus ou tubes de sang d'animaux domestiques. Ces identifications se faisaient donc en fonction de la disponibilité des animaux vertébrés sur les marchés, raison pour laquelle plusieurs repas sanguins restaient souvent non identifiés. Le développement de nouvelles

approches impliquant l'amplification PCR du fragment des gènes cytochrome b ou cytochrome oxydase 1 (COI) et le séquençage des amplicons obtenus, permettent l'identification "barcoding" de l'ADN des espèces d'hôtes ou d'agents pathogènes à plus de 98-99% à partir des séquences de références conservées dans la base de données universelle Genbank. C'est cette nouvelle approche que nous avons utilisé dans cette étude.

La suite de ce manuscrit est constituée de trois chapitres successifs traitant de l'abondance et de la distribution des différentes espèces de mouches hématophages; de l'étude des habitudes alimentaires des différentes espèces de glossines identifiées et l'évaluation d'un outil d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage à l'aide de mouches hématophages. L'ensemble de ces chapitres sera discuté avant d'en tirer une conclusion générale et d'émettre quelques perspectives.

**Distribution et abondance des mouches hématophages (Glossinidae, *Stomoxys*,  
Tabanidae) dans deux parcs nationaux du Gabon.**

#### IV.1] Introduction générale du chapitre I

---

Ce chapitre est rédigé en anglais sous forme d'article scientifique. Il fait l'objet d'une publication dans la revue PARASITE.

Les mouches hématophages, particulièrement les glossines, stomoxes et tabanides, jouent un rôle important dans le maintien et la transmission des agents pathogènes humains et animaux. La THA par exemple, communément appelée maladie du sommeil, est causée par des protozoaires du genre *Trypanosoma*. Les différents trypanosomes sont biologiquement transmis par les glossines (Reifenberg et al., 1997; Solano et al., 1999; Torr & Vale, 2015), mais les stomoxes et tabanides peuvent également en assurer la transmission mécanique (Mihok et al., 1995; D'Amico et al., 1996; Desquesnes & Davila, 2002; Desquesnes & Dia, 2004; Baldacchino et al., 2014; Rodriguez et al., 2014). Ces mouches hématophages sont également impliquées dans la transmission biologique et mécanique de plusieurs autres agents pathogènes (Krinsky, 1976; Plowright et al., 1994; De La Fuente et al., 2005; Baldacchino et al., 2013a; 2013b; Baldacchino et al., 2014), et constituent donc de véritables risques pour les humains et les animaux.

La modeste contribution du Gabon dans la lutte mondiale contre les changements climatiques et l'extinction massive des espèces animales et végétales, a été la création en 2002 de 13 parcs nationaux représentant 11% du territoire national. Une meilleure valorisation de ces parcs nationaux passe nécessairement par le renforcement des programmes de conservations, le développement des programmes de recherches et le développement de l'écotourisme afin d'impliquer d'avantage les populations locales. Cependant, toutes ces activités peuvent avoir pour conséquences l'augmentation des contacts entre l'homme et la faune sauvage et faciliter l'échange des agents pathogènes en présence de vecteurs (Epstein et al., 1993; Adams et al., 2001; Woodford et al., 2002; Wolfe et al., 2005; Lonsdorf et al., 2006). En outre, peu de connaissances existent sur les différentes espèces de mouches hématophages des parcs nationaux du Gabon et les différents facteurs écologiques qui conditionnent leur abondance ou leur distribution; même si quelques études ont été réalisées dans le parc national de l'Ivindo (Mavoungou et al., 2008a; Zinga et al., 2013). C'est dans ce sens que nous avons effectué cette étude dans les parcs nationaux de l'Ivindo et de Moukalaba-Doudou au Gabon.

## Distribution and abundance of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae) in two national parks of Gabon

Paul Yannick Bitome Essono<sup>1,2,\*</sup>, François-Xavier Dechaume-Moncharmont<sup>1</sup>, Jacques Mavoungou<sup>2</sup>, Régis Obiang Mba<sup>3</sup>, Gérard Duvallet<sup>4</sup>, and François Bretagnolle<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Bourgogne, UMR 6282-Biogéosciences, 6 Boulevard Gabriel 21000 Dijon, France

<sup>2</sup> Institut de Recherche en Écologie Tropicale (IRET-CENAREST), BP 13354 Libreville, Gabon

<sup>3</sup> Centre de Recherche Médicale de Lambaréné, Albert Schweitzer, BP 118 Lambaréné, Gabon

<sup>4</sup> UMR 5175 CEFE, Université Paul-Valéry Montpellier, route de Mende, 34199 Montpellier Cedex 5, France

Received 18 March 2015, Accepted 29 June 2015, Published online xxx

**Abstract** – In order to minimize risks of pathogen transmission with the development of ecotourism in Gabon, a seasonal inventory has been performed in five contrasted biotopes in Ivindo (INP) and Moukalaba-Doudou (MDNP) National Parks. A total of 10,033 hematophagous flies were captured. The Glossinidae, with six different species identified, was the most abundant group and constitutes about 60% of the captured flies compared to the *Stomoxys* (6 species also identified) and Tabanidae with 28% and 12%, respectively. The Glossinidae showed a higher rate of capture in primary forest and in research camps. In INP, the *Stomoxys* showed a higher rate of capture in secondary forest and at village borders, whereas in MDNP the *Stomoxys* were captured more in the savannah area. Thus, each fly group seemed to reach maximum abundance in different habitats. The Glossinidae were more abundant in primary forest and near research camps while *Stomoxys* were more abundant in secondary forest and savannah. The Tabanidae did not show a clear habitat preference.

**Key words:** Hematophagous flies, Distribution, Climatic seasons, National Parks, Gabon.

**Résumé** – **Distribution et abondance des mouches piqueuses (Glossinidae, *Stomoxys* et Tabanidae) dans deux parcs nationaux du Gabon.** Afin de minimiser les risques de transmission de pathogènes avec le développement de l'écotourisme au Gabon, un inventaire saisonnier a été mené dans cinq biotopes caractéristiques des parcs nationaux de l'Ivindo (PNI) et de Moukalaba-Doudou (PNMD). Au total, 10 033 mouches hématophages ont été capturées. Les Glossinidae, avec 6 espèces différentes identifiées, constituaient le groupe le plus abondant avec 60 % de mouches capturées, suivi des *Stomoxys* (6 espèces différentes identifiées) et des Tabanidae avec respectivement 28 % et 12 %. Les glossines ont été majoritairement capturées en forêt primaire et au niveau des camps de recherche. Au PNI, les stomoxes ont été majoritairement capturés en forêt secondaire et en périphérie des villages. Alors qu'au PNMD, ces stomoxes ont été majoritairement capturés au niveau des savanes. Ainsi, chaque groupe de mouches semble être inféodé à un type de milieu. Les glossines préfèrent la forêt primaire et camps de recherche, alors que les stomoxes préfèrent la forêt secondaire et la savane. Cependant, les tabanides ne dégagent aucune préférence particulière pour un type de milieu.

### 1. Introduction

Hematophagous flies, and among those, species belonging to the families Glossinidae and Tabanidae and to the *Stomoxys* genus, play an important role in human health and wild and domestic animal health because many species of these groups are vectors of organisms responsible for several human and

animal diseases [5, 49, 54]. Moreover, several vector-transmitted diseases are considered as emergent due to their recent evolution and their propagation. The preponderant role of the species belonging to the Glossinidae family in the transmission of African Human Trypanosomiasis (AHT), or sleeping sickness, has historically hidden the potential role of other hematophagous flies, like those belonging to the genus *Stomoxys* and the family Tabanidae, in trypanosome transmission [12, 13, 32] and the transmission of other pathogens. For example,

\*Corresponding author: bitomessono@yahoo.fr



it is now recognized that several species of the genus *Stomoxys* are vectors of parasites, such as *Trypanosoma* sp., and various viruses, such as the *Capripox-viruses* responsible for lumpy skin disease in sheep and goats [6, 8]. The Tabanidae are also mechanical or biological vectors of many human and animal pathogens [4, 11] and an analogous pattern of trypanosome transmission has been documented for several tabanids of the *Atylotus* genus [1, 11]. Species of the *Chrysops* genus are involved in the cyclical transmission of *Loa loa* filariasis [50].

Since the 1980s, an exponential increase of emergent infectious diseases (EID) has been observed in the world [55, 56], among which the recent increase or the re-emergence of parasitic infections in humans and domestic animals. It is now widely accepted that recent progression of ancient zoonoses is connected to ecological factors which result from environmental changes generated by human activities [10, 30]. In particular, in the tropical regions, the increase of EIDs is associated with the dramatic alteration of natural ecosystems (deforestation, poaching, and bushmeat consumption) and to the increasing human encroachment into wild areas that were previously free of human settlements [3, 27, 48]. The recent development of ecotourism can also promote this process of disease emergence. Currently, new empirical approaches that emphasize the ecology of potential vectors of EIDs are being developed to understand and to quantify the contamination risk in various situations [41]. In particular, the implementation of area-wide integrated pest management principles has recently been successfully tested on *Glossina palpalis gambiensis* in Senegal [15]. The implementation of such methods needs a complex modelling approach fuelled by a full understanding of the ecology of the vector species.

Hematophagous fly activity is highly seasonal [4, 9]. For example, most of the *Glossina* species respond to seasonal patterns, and within a region, the populations of the different species increase in the rainy season [22]. In Uganda, Harley [26] found that most of the Tabanidae and *Stomoxys* species were caught throughout the year but that there was a seasonal rise in abundance corresponding to the ends of the rains and the beginning of the dry season. However, the basic seasonal pattern of the different groups is influenced by local climate parameters and species exhibit various patterns of population fluctuation related to local climate, vegetation, and host blood meal source [9, 37]. Hence, the design of management strategies against the different species and of strategies that minimize the risk of fly bites requires a full regional understanding of the species' phenology and ecology.

These last 10 years, the government of Gabon has devel-

oped an ambitious conservation program for its natural areas based on the development of national parks (which constitute about 11% of the national territory) and the development of ecotourism as one of its economic strategies. However, the human presence in previously human-free areas linked to the presence of several diseases (due to bacteria, viruses, protozoa, etc.) could enhance the risk of transmission of emergent diseases, especially where hematophagous flies have dense populations.

The chorology and the ecology of hematophagous flies in Central Africa and in Gabon have been partially studied. Several publications have addressed the chorological status

of the tsetse species in Central Africa [16, 39, 40] and the ecology of tsetse species has been extensively studied in many parts of Africa [9]. These studies showed that the majority of the tsetse species of Central Africa are dependent on forest cover although some species can be found at low frequency in open habitats depending on the hygrometry [9, 57]. Moreover, a strong seasonal pattern of abundance is found, the abundance of the flies increasing at the end of the rainy season and reaching its maximum at the beginning of the dry season [9]. The stomoxes and the tabanids showed higher densities in secondary forest, open habitats, and in the vicinity of anthropized areas [5, 43, 44]. However, the knowledge of the environmental parameters that govern the distribution and abundance of hematophagous flies needs to be increased in Gabon in order to design wide area pest management strategies for local and tourist populations and to minimize interactions between humans and hematophagous flies. The present study was conducted to improve our understanding of the distribution, the abundance, and the phenology of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae) in two national parks of Gabon.

## 2. Materials and methods

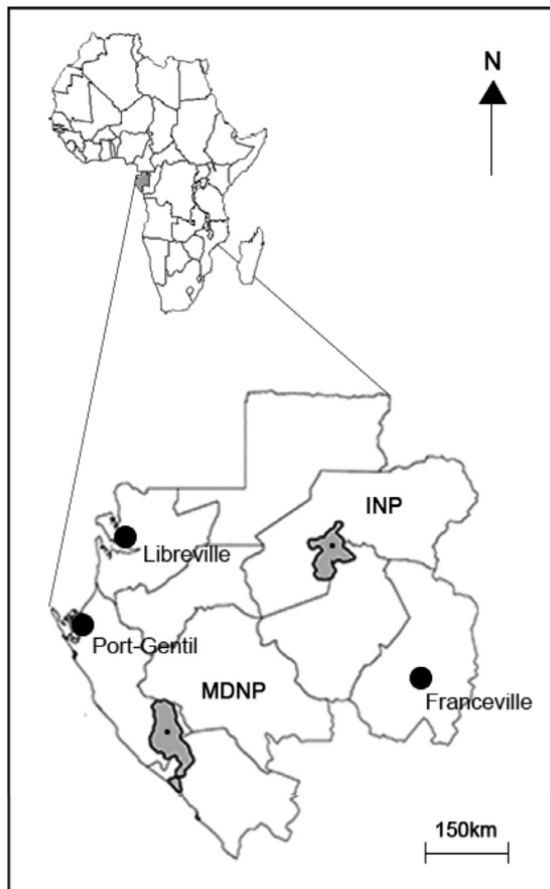
### 2.1. Study zone

The study areas consisted of two Gabonese national parks 450 km apart from one another (Fig. 1); the Ivindo National Park (INP) (N: 00°30.828'/E: 12°48.201') and the Moukalaba-Doudou National Park (MDNP) (S: 00°24.475'/E: 10°34.203'). The INP, located in the north-east of the country, is largely dominated by primary forest with minor patches of open wetlands and secondary forests. Some villages are established at the border of the park and a research camp (IPASSA Research Station) is set up within the park. The MDNP, located in the south-western part of the country, is dominated by a mosaic of savannah and primary forest. A research camp (BOTSIANA Research Station) is established within the park and the park is bordered by a few villages.

The climate of Gabon, humid and equatorial, is characterized by two alternating dry and rainy seasons. The short dry season (SDS) occurs from mid-December to mid-March and is followed by the long rainy season (LRS) from mid-March to mid-June. The long dry season (LDS) occurs from mid-June to mid-September and ends with the small rainy season (SRS) from mid-September to mid-December.

### 2.2. Sampling strategy

Hematophagous flies were sampled over almost 2 years between 2012 and 2014 in order to cover the four climatic seasons (SDS, LRS, LDS, SRS) in the two national parks. Each sampling campaign consisted of a series of seven consecutive days of capture during each climatic season and in each park. Flies were collected in five contrasted habitats: (1) the primary forest (PF) is a forest with a closed canopy and hence with a shrub layer at low density; (2) the secondary forest (SF) is a forest with an open canopy and with a very rich and dense



**Figure 1.** Illustration of the study zone: Ivindo and Moukalaba-Doudou national park.

shrub layer dominated by the family Marantaceae; (3) the research camps (RCs) are places where the forest has been cut down over a small area in order to establish a scientific research station (IPASSA in INP and BOTSIANA in MDNP); (4) the savannahs (SAVs) are wide herbaceous vegetation sites, and (5) the villages (VGs) around the parks are anthropized areas. However, the savannah habitat was not present in the INP and the secondary forest was not sampled in the MDNP.

Hematophagous flies were captured with two different traps: the Vavoua and the Nzi traps. The Vavoua trap was initially developed for the capture of Glossinidae and was also used for the capture of *Stomoxys* on Réunion Island [19, 36]. The Nzi trap was more adapted to the capture of *Glossina pallidipes* and tabanids in Africa [2, 46]. At each sampling point, the two traps were installed side by side (1 Vavoua and 1 Nzi) at a distance of 1 m. Although the proximity of the two traps could influence the catches, this sampling strategy was decided in order to maximize the catch of the different species. Three sampling points were spaced out with intervals of 500 m following a transect in the five biotopes described above. Each season, we used 24 traps (12 Vavoua and 12 Nzi) over 7 days in each national park: 6 traps in research camps, 6 traps in

primary forests, 6 traps in villages, 6 traps in secondary forests (only in INP), and 6 traps in the savannah (only in MDNP). The capture effort was calculated as the number of traps installed by day in the parks and over the four seasons: (24 traps  $\times$  7 days  $\times$  4 climatic seasons  $\times$  2 national parks) = 1344 traps-days.

### 2.3. Data analysis

We calculated the apparent density by trap (ADT) index in order to estimate the relative abundance of each species in the different sampled biotopes and in each season. The ADT index was calculated as:  $ADT = \text{number of captured flies} \times (\text{number of traps} \times \text{number of days of capture})^{-1}$ . To assess the influence of biotopes and season on the number of flies captured we used generalized linear models with mixed-effect and model selection procedures based on information theory [18, 35]. As a first step, we analyzed the absolute number of flies considered at the level of the taxonomic group (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae). Then, we analyzed each group separately in order to assess differences among species within each group. We used a zero inflated generalized mixed linear model with a negative binomial distribution using the statistical package “glmmADMB” [17] for R software version 3.0.2 [52]. In each park, an *a priori* full model was defined including the taxonomic group (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae), the season, the biotope, and the two-way interactions between these co-variables. We considered the taxonomic group, the season, and the biotope as fixed effects and the trapping sites as a random effect. This full model was compared to the simpler models taking into account some of the co-variables or their interactions [18, 35]. The best models were ranked according to the Akaike information criterion (AIC), the Akaike weights ( $w$ ) and differences ( $\Delta$ ) between the minimum AIC and AIC for a given model were used to compare competing models [18, 35]. The Akaike weight of a given model varies between 0 and 1 and models with the largest weight (and lowest delta) are the most plausible models. As a second step, separated analysis within each taxonomic groups (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae) was carried out following the same procedure as described above in order to analyze differences of abundance among species. We considered an *a priori* full model taking into account the species, the season, and the biotopes (with their two-way interactions) as co-variables and the trapping sites as random effect.

### 3. Results

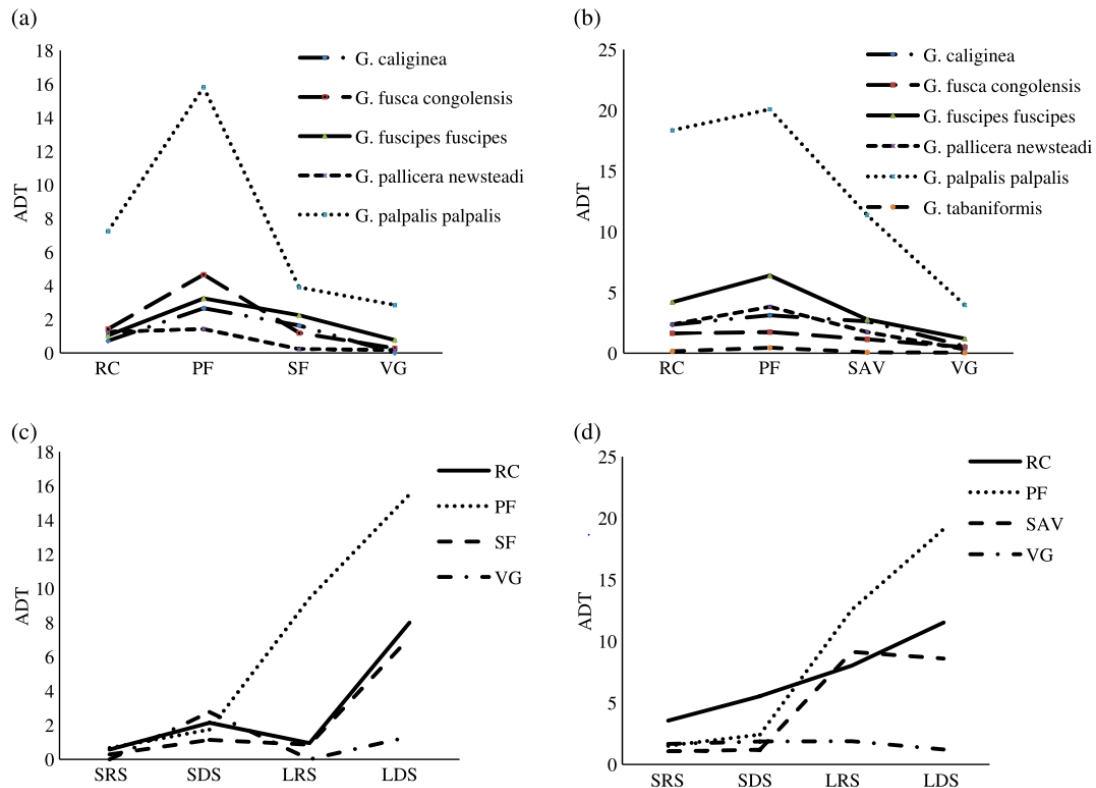
A total of 10,033 hematophagous flies were captured in 1344 traps-days. We captured 4554 flies (45.39%) in Ivindo National Park “INP” (Table 1) and 5479 flies (54.61%) in Moukalaba-Doudou National Park “MDNP” (Table 1). The Glossinidae family was the most abundant and constituted about 60% of the captured flies, compared to the *Stomoxys* and Tabanidae with 28% and 12%, respectively. Considering the variation of the different taxonomic groups along seasons and biotopes, in both trapping sites, our model selection procedure indicated that the best model (i.e. the model with

**Table 1.** The apparent density (ADT) of hematophagous flies distributed in three groups: Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae in Ivindo (INP) and Moukalaba-Doudou (MDNP) national parks for the four climatic seasons sampled (SRS: small rainy season, SDS: short dry season, LRS: long rainy season, LDS: long dry season) and for five biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest (in INP), SAV: savannah (in MDNP), VG: villages). *N* represents the number of flies species caught by group. The second column (%) gives the proportion of each species/genus belonging to that group of flies.

	INP	%	ADT															
			SRS				SDS				LRS				LDS			
			RC	PF	SF	VG	RC	PF	SF	VG	RC	PF	SF	VG	RC	PF	SF	VG
<b>Glossinidae (N = 2206)</b>			<b>0.58</b>	<b>0.67</b>	<b>0.29</b>	<b>0</b>	<b>2.14</b>	<b>1.74</b>	<b>1.14</b>	<b>2.77</b>	<b>0.95</b>	<b>9.43</b>	<b>0.86</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>15.5</b>	<b>7.12</b>	<b>1.33</b>
<i>G. caliginea</i>	8.7	0.09	0	0.09	0	0.14	0.09	0.09	0	0.09	0.95	0.19	0	0.4	1.62	1.26	0	
<i>G. fusca congolensis</i>	14.42	0	0	0	0	0.57	0.38	0.09	0.19	0.09	0.66	0.38	0	0.76	3.62	0.72	0.09	
<i>G. fuscipes fuscipes</i>	14.23	0	0.09	0	0	0.09	0	0.19	0.48	0	0.29	0.19	0	0.95	2.86	2.05	0.28	
<i>G. pallicera newsteadi</i>	5.89	0	0	0	0	0	0.19	0.09	0.09	0	0.19	0.05	0	1.24	1.04	0.09	0.09	
<i>G. palpalis palpalis</i>	56.75	0.48	0.57	0.19	0	1.33	1.07	0.66	2	0.77	7.81	0.05	0	4.66	6.36	3	0.85	
<b>Stomoxys (N = 1732)</b>			<b>0.09</b>	<b>0.28</b>	<b>1.72</b>	<b>0.38</b>	<b>1.81</b>	<b>1.05</b>	<b>6.02</b>	<b>1.05</b>	<b>1.98</b>	<b>0.6</b>	<b>2.81</b>	<b>2.19</b>	<b>3.19</b>	<b>2.86</b>	<b>9.86</b>	<b>5.33</b>
<i>S. calcitrans</i>	21.25	0	0	0	0	0.09	0.19	0.66	0.09	0.35	0.12	0.48	0.28	1.1	0.38	3.1	1.91	
<i>S. inornatus</i>	23.33	0.09	0.19	1.33	0.19	0.38	0.19	1.14	0.19	0.48	0.09	1.33	0.19	0.29	1.14	2.1	0.28	
<i>S. niger niger</i>	15.24	0	0	0.19	0.19	0.57	0.09	1.33	0.09	0.09	0.09	0.38	1.24	0.38	0.57	0.76	0.19	
<i>S. niger bilineatus</i>	18.01	0	0	0	0	0.48	0.09	1.07	0.09	0.66	0.09	0.14	0.09	1.24	0	1.9	1.5	
<i>S. omega omega</i>	12.7	0	0.09	0.19	0	0.29	0.38	1.62	0.28	0.19	0.09	0.19	0.19	0.19	0	1.05	0.48	
<i>S. transvittatus</i>	9.47	0	0	0	0	0	0.09	0.19	0.09	0.19	0.09	0.29	0.19	0	0.76	0.95	0.98	
<b>Tabanidae (N = 616)</b>			<b>0.09</b>	<b>0.19</b>	<b>0.09</b>	<b>0.09</b>	<b>0.76</b>	<b>0.19</b>	<b>0.57</b>	<b>0.86</b>	<b>1.33</b>	<b>0.69</b>	<b>0.76</b>	<b>0.74</b>	<b>1.05</b>	<b>1.92</b>	<b>0.98</b>	<b>4.36</b>
<i>Ancala</i> sp.	13.96	0.09	0	0	0	0.19	0.09	0	0	0.19	0	0	0	0	0.19	0.38	0	
<i>Atylotus</i> sp.	27.27	0	0	0	0	0.09	0.09	0	0	0.19	0	0.57	0.19	0.86	0.95	0.5	0.07	
<i>Chrysops</i> sp.	29.22	0	0	0	0.09	0.28	0	0	0.48	0.09	0.29	0.09	0.45	0.09	0	0	3.7	
<i>Haematopota</i> sp.	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0	0.19	0	0.09	0	0	0	0	0	
<i>Tabanus par</i>	2.27	0	0	0	0	0.09	0	0.47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Tabanus taeniola</i>	26.95	0	0.19	0.09	0	0.09	0	0.09	0.38	0.86	0.21	0.09	0	0.09	0.79	0.09	0.57	
	MDNP	%	ADT															
			SRS				SDS				LRS				LDS			
			RC	PF	SAV	VG	RC	PF	SAV	VG	RC	PF	SAV	VG	RC	PF	SAV	VG
<b>Glossinidae (N = 3833)</b>			<b>3.55</b>	<b>1.52</b>	<b>1.05</b>	<b>1.66</b>	<b>5.54</b>	<b>2.42</b>	<b>1.19</b>	<b>1.86</b>	<b>8.02</b>	<b>12.57</b>	<b>9.14</b>	<b>1.88</b>	<b>11.52</b>	<b>19.12</b>	<b>8.6</b>	<b>1.21</b>
<i>G. caliginea</i>	9.81	0.14	0.16	0.19	0.24	0.64	0.55	0.19	0.12	0.83	0.91	0.88	0.07	0.74	1.5	1.36	0.14	
<i>G. fusca congolensis</i>	5.77	0.36	0.29	0.19	0.24	0.69	0.26	0.12	0.16	0.26	0.31	0.21	0.07	0.33	0.88	0.62	0.02	
<i>G. fuscipes fuscipes</i>	16.59	0.07	0.12	0	0	0.45	0.4	0.03	0.26	1.73	3.16	1	0.33	1.95	2.71	1.74	0.6	
<i>G. pallicera newsteadi</i>	8.01	0.21	0.07	0.07	0.16	0.36	0.28	0.04	0	0.83	1.88	0.88	0.02	0.97	1.59	0.74	0.14	
<i>G. palpalis palpalis</i>	58.86	2.76	0.88	0.6	1.02	3.4	0.92	0.52	1.3	4.36	6.3	6.17	1.38	7.83	11.98	4.07	0.26	
<i>G. tabaniformis</i>	0.97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.16	0.45	0.07	0.04	
<b>Stomoxys (N = 1105)</b>			<b>0.17</b>	<b>0.3</b>	<b>2.67</b>	<b>0.55</b>	<b>0.11</b>	<b>0.04</b>	<b>6.64</b>	<b>0.72</b>	<b>1.52</b>	<b>1.6</b>	<b>2.21</b>	<b>0.57</b>	<b>2.52</b>	<b>2.1</b>	<b>4.05</b>	<b>0.81</b>
<i>S. calcitrans</i>	14.93	0	0	0.31	0.07	0	0.02	0.93	0.12	0.26	0.21	0.4	0	0.47	0.36	0.5	0.26	
<i>S. inornatus</i>	22.99	0.07	0.12	0.79	0.09	0.02	0.02	1.93	0.09	0.4	0.35	0.4	0.12	0.43	0.26	0.6	0.21	
<i>S. niger niger</i>	18.82	0.07	0.02	0.5	0.02	0	0	1.3	0.07	0.26	0.36	0.5	0.26	0.33	0.5	0.64	0.09	
<i>S. niger bilineatus</i>	12.85	0.02	0.09	0.31	0.07	0.07	0	0.52	0.07	0.12	0.17	0.12	0.12	0.43	0.24	0.88	0.12	
<i>S. omega omega</i>	17.19	0	0	0.5	0.02	0.02	0	1.12	0.07	0.33	0.24	0.33	0.04	0.55	0.5	0.79	0.12	
<i>S. transvittatus</i>	13.21	0	0.07	0.26	0.02	0	0	0.83	0.17	0.14	0.26	0.45	0.02	0.29	0.24	0.69	0	
<b>Tabanidae (N = 541)</b>			<b>0.19</b>	<b>0.26</b>	<b>0.33</b>	<b>0.02</b>	<b>0.47</b>	<b>0.97</b>	<b>0.24</b>	<b>0.14</b>	<b>0.21</b>	<b>0.07</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1.66</b>	<b>2.81</b>	<b>3.19</b>	<b>2.19</b>
<i>Ancala</i> sp.	14.42	0.12	0	0.02	0	0	0.12	0	0	0	0	0	0	0.42	0.52	0.57	0.07	
<i>Atylotus</i> sp.	33.46	0.02	0.07	0.07	0	0.07	0.21	0.07	0	0.12	0	0	0	0.09	0.81	1.4	1.36	
<i>Chrysops</i> sp.	15.34	0	0	0	0	0	0	0	0.14	0	0	0	0	0.74	0.47	0.07	0.55	
<i>Haematopota</i> sp.	0.92	0	0	0	0	0.02	0.07	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Tabanus par</i>	14.79	0.02	0.07	0.07	0	0.21	0.26	0.09	0	0.09	0	0	0	0.14	0.35	0.45	0.05	
<i>Tabanus taeniola</i>	21.07	0.07	0.12	0.167	0.02	0.17	0.31	0.02	0	0	0.07	0	0	0.26	0.64	0.69	0.17	

the lowest AIC) was obtained with the full model (i.e. main effects and the interactions of the groups with biotopes or seasons). In MDNP, the Akaike weight was  $w = 0.992$  whereas the second best model (the full model without biotopes  $\times$  seasons interaction) reaches a weight of  $w = 0.08$  (with a  $\Delta = 9.59$ ), which means that only the full model can be

considered as the best model: we observed an effect of every co-variate and their two-way interactions. In MDNP, the Akaike weight of the full model was  $w = 0.674$ , whereas the second best model (the full model without groups  $\times$  seasons interaction) reaches a weight of  $w = 0.29$  (with a  $\Delta = 1.67$ ). These results indicate that the different families of

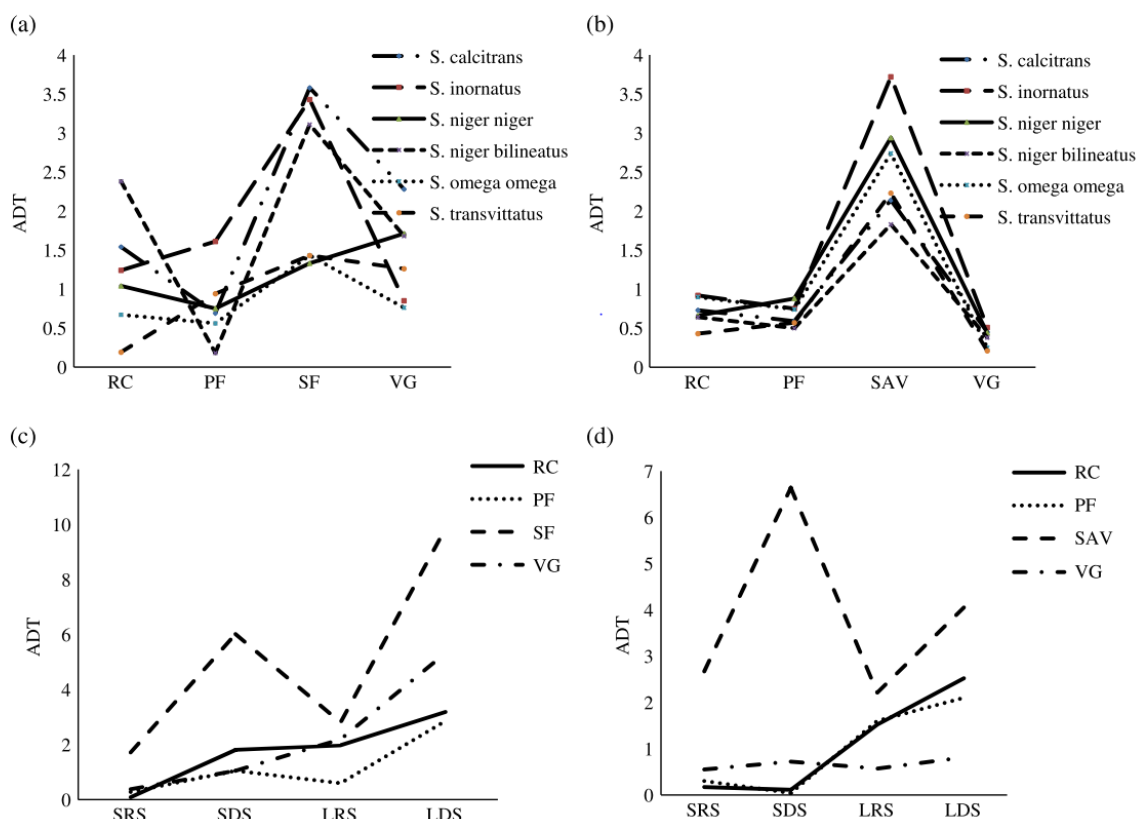


**Figure 2.** Distribution (ADT) of tsetse flies: Tsetse species according to four biotopes in (a) INP (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest, VG: villages) and (b) MDNP (RC: research camps, PF: primary forest, SAV: savannah, VG: villages); Glossinidae family caught during the four climatic seasons (SRS: small rainy season, SDS: short dry season, LRS: long rainy season, LDS: long dry season) in (c) four biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest, VG: villages) of INP and (d) four biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SAV: savannah, VG: villages) of MDNP.

hematophagous flies showed heterogeneous variation of abundance along seasons and biotopes. In both national parks, the Glossinidae showed higher rates of capture in primary forest (ADT = 7.0 [ $\pm$ SD 18.2] in INP; ADT = 9.0 [ $\pm$ SD 19.32] in MDNP) and in research camps (ADT = 3.0 [ $\pm$ SD 7.11] in INP; ADT = 7.2 [ $\pm$ SD 14.87] in MDNP) (Figs. 2a and 2b). In INP, the *Stomoxys* showed the highest rates of capture in secondary forest (ADT = 5.12 [ $\pm$ SD 6.61]) and in villages (ADT = 2.24 [ $\pm$ SD 1.97]) whereas in MDNP the *Stomoxys* were more frequently captured in savannah (ADT = 5.0 [ $\pm$ SD 1.91]). The Tabanidae did not show a clear habitat preference (Figs. 4a and 4b). We captured 4433 flies (45%) in long dry season (LDS), 3187 flies (31%) in long rainy season (LRS), 1317 flies (13%) in short dry season (SDS), and 1096 flies (11%) in small rainy season (SRS). In each park and in each biotope, the model selection procedure described above revealed a strong and significant variation in the abundance of the total amount of flies captured during the different seasons. In both national parks, the tsetse and the tabanids showed a consistent increase of abundance throughout the year (Figs. 2c, 2d, 4c and 4d), being far less abundant during small rainy (SRS) and short dry season (SDS) and then increasing in long rainy season (LRS) and in long dry season (LDS). For the

stomoxes (Figs. 3c and 3d), a different pattern was observed. Two peaks of abundance were observed (SDS and LDS), suggesting that this group has an optimum in dry periods. Thus, each group seemed to reach maximal abundance in different habitats and seasons. The Glossinidae were more abundant in a closed vegetation habitat during the long rainy and the following long dry seasons, whereas *Stomoxys* were more abundant in more open habitats and during the dry seasons.

A total of 14 species were identified, 6 species of Glossinidae, 6 species of *Stomoxys*, and 2 species of Tabanidae. The remaining Tabanidae were identified at the genus level. We captured six different tsetse species in MDNP (Table 1) whereas one species (*G. tabaniformis*) was never recorded in our traps in INP (Table 1). In both sites sampled, *G. palpalis palpalis* was the most abundant species and represented almost 60%. The second most abundant species, in both sites, was *G. fuscipes fuscipes* (respectively, 14 and 17% in INP and MDNP). *Glossina fusca congolensis* was captured at a higher frequency in INP (14.42%) than MDNP (6%) whereas the two remaining species (*G. caliginea* and *G. pallicera newsteadi*) showed comparable frequencies of capture between the two sites (<10%). Concerning the stomoxes, we captured six different species in both national parks. The relative

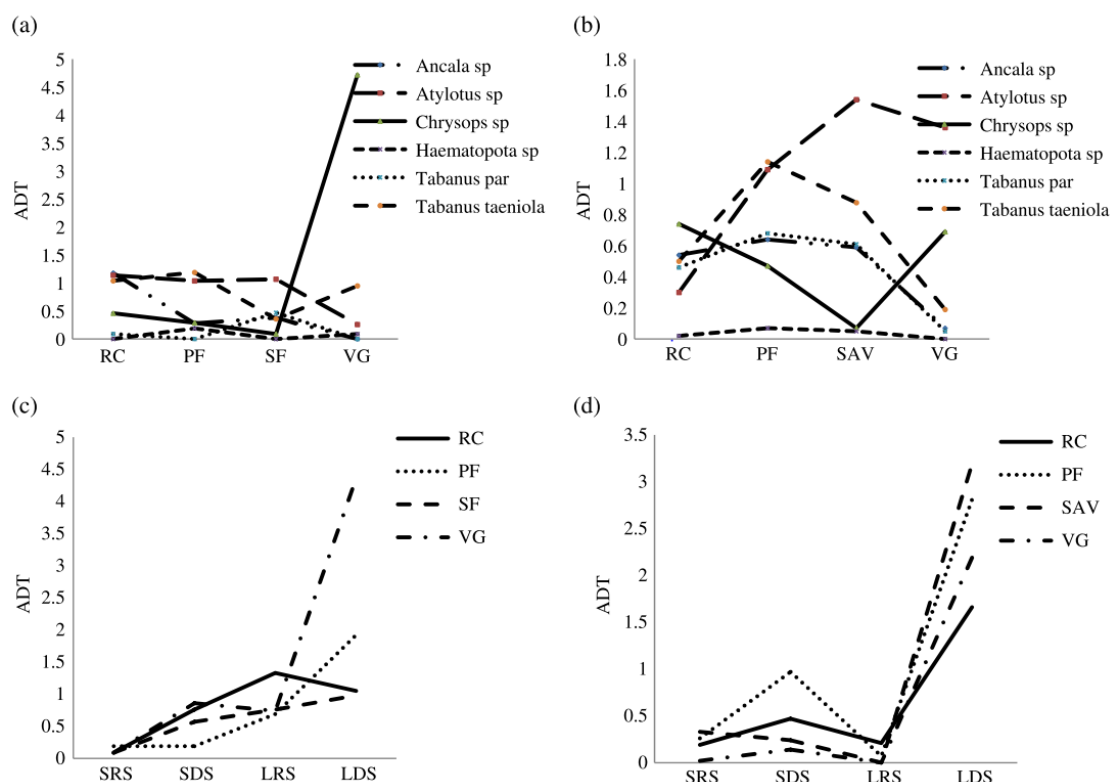


**Figure 3.** Distribution (ADT) of stomoxes: *Stomoxys* species according to four biotopes in (a) INP (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest, VG: villages) and (b) MDNP (RC: research camps, PF: primary forest, SAV: savannah, VG: villages); *Stomoxys* genus caught during the four climatic seasons (SRS: small rainy season, SDS: short dry season, LRS: long rainy season, LDS: long dry season) in (c) four biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest, VG: villages) of INP and (d) four biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SAV: savannah, VG: villages) of MDNP.

abundance of the different species was homogeneous and no species clearly dominated the community of trapped insects. Finally, three genera or species were dominant in tabanids, the genus *Atylotus*, the genus *Chrysops* and *Tabanus taeniola* again with a relative homogeneity of abundance among the two national parks.

Within the tsetse flies, the best model to explain the species abundance variation in MDNP was the full model without the species  $\times$  biotopes interaction (Akaike weight  $w = 1$ , the second best model had a delta = 18) whereas in INP the best model was the full model (Akaike weight  $w = 0.994$ ) and the second model, the full model without species  $\times$  biotopes interaction was far less plausible (weight  $w = 0.06$  with a  $\Delta = 10.4$ ). Hence, these results suggest that the relative abundance of the tsetse species significantly varied among biotopes and seasons. However, these interactions result mostly from the amplitude of abundance variation of *G. palpalis* and from the higher abundance of this species in savannah and villages, whereas the other species are rare in these biotopes (Fig. 2). Apart from this species, the other tsetse species showed a relatively homogeneous response to biotope and season, being more abundant in forested biotopes and increasing in densities

in long rainy seasons (Fig. 2). Within the stomoxes, the only plausible model in MNP was the additive model (taking into account only the three main effects without the interactions) with a weight  $w = 0.99$  (the second best model  $\Delta = 9.8$ ), whereas in INP the only plausible model was the full model with all the interactions (weight  $w = 1$ , second best model  $\Delta = 23.4$ ). The relative abundance fluctuations among stomoxe species illustrated in Figure 3 show that in MDNP all the species varied homogeneously along biotopes and seasons, being far more abundant in savannah and in dry seasons. In INP, the relative abundance was less homogeneous according to biotope and season, although the dry seasons and the open natural habitats were the most favorable. Within the tabanids, the estimation of standard deviation of the parameters of the full model with all the interactions (species  $\times$  season and species  $\times$  biotope) was never possible due to the number of zero, the inflation of degree of freedom, and the sample size requested with such a model. Hence the best model in both parks was the additive model with species, biotopes, and seasons (MDNP weight  $w = 1$ , second best model  $\Delta = 11$ ; INP weight  $w = 1$  and second best model  $\Delta = 63$ ). Our data suggest that a strong heterogeneity of abundance exists for



**Figure 4.** Distribution (ADT) of tabanids: Tabanidae species according to four biotopes in (a) INP (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest, VG: villages) and (b) MDNP (RC: research camps, PF: primary forest, SAV: savannah, VG: villages); Tabanidae family caught during the four climatic seasons (SRS: small rainy season, SDS: short dry season, LRS: long rainy season, LDS: long dry season) in (c) four biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SF: secondary forest, VG: villages) of INP and (d) four biotopes (RC: research camps, PF: primary forest, SAV: savannah, VG: villages) of MDNP.

the different genera or species according to biotopes and seasons (Fig. 4). However, a general pattern of increased abundance during the long rainy season similar to the tsetse was observed for the different taxonomic units, i.e. low abundance in SRS and SDS and progressive increase in LRS, especially in MDNP (Figs. 4c and 4d).

#### 4. Discussion

In the present study, we analyzed the variation of abundance of different families of hematophagous flies in Gabon in order to complement and to increase the knowledge on the ecology of these families in Central Africa. Although the different families of flies were captured during our study, we found a heterogeneous distribution of abundance among biotopes and seasons for the different captured hematophagous fly species. The Glossinidae was the dominant family captured and represented 60% of the trapped individuals whereas the *Stomoxys* and the Tabanidae represent 28% and 12%, respectively. However, it is very hard to assess whether this apparent heterogeneity reflects the real relative abundance of the different taxonomic groups. Indeed, a possible bias could result from

the differential attractiveness of the trap used toward the different groups in interaction with the environmental parameters (for example, light intensity) [2, 19, 36, 46]. Six species and subspecies of genus *Glossina* were identified in the present study. This finding corroborates data reported by other authors in the region [24, 39, 40, 58]. However, we did not identify *G. tachinoides*, a species reported in the INP by Zinga et al. [59] and in MDNP by Dibakou et al. [14]. The possible presence of this xeric species normally reported in Central Africa, in northern parts of Cameroon [25, 53], and of Central African Republic [16] needs to be more deeply documented. Moreover, Dibakou et al. [14] have reported the presence of *G. nashi* in Doussala village and research camp in Moukalaba-Doudou National Park, while this species is almost absent in any environment frequented by humans [29, 38].

The ecology of the tsetse flies has been widely studied in West, East, and Central Africa [9, 16, 34, 53]. These studies suggest an ecological specialization for many species, some being adapted to forest habitats, whereas other species are more dependent on riverine or savannah habitats. However, most of the *Glossina* species tend to avoid disturbed and open areas and show a discontinuous distribution determined by environmental criteria that include abiotic factors (density of

the vegetation, rainfall, temperature, and saturation deficit) and host blood meal source [20, 33, 37]. In our study, the most captured species, *G. p. palpalis*, was found on almost all biotopes sampled, although in other parts of Africa, this species tends to occur in riverine and lacustrine habitats. This trend was also found by other authors in Central Africa where *G. p. palpalis* was the dominant species captured [7, 21, 23]. All the tsetse species sampled in our study occur sympatrically, predominantly in forested biotopes and along the different seasons. In the literature, the tsetse guild, i.e. the cohabitation of several tsetse species that exploit the same resource, comprise generally two or three species [22]. In the present study, we found a very rare situation of five or six different coexisting species in the same biotopes. In Ivory Coast, a study found that the conflicting coexistence of several species results from a dynamic and complex equilibrium that has been partially investigated [22]. One possible explanation for the coexistence of so many species could result from a segregation of diurnal activity. For example, *G. p. palpalis* is mostly active between 11 h and 16 h [31], whereas *G. tabaniformis* is predominantly active at the beginning and the end of the day [53]. Such diurnal segregation could promote the coexistence of the species, although this has not been fully documented [9]. The complex tsetse guilds present in Gabon would provide an interesting model to deeply study the dynamics of coexistence.

The *Stomoxys* represented 28% and were more abundant in open biotopes as the secondary forest, savannah, or villages. Concerning these hematophagous flies, we found six different species in our study. Mavoungou et al. [43] captured seven different species that were identical to our sampling, although we did not capture *Stomoxys xanthomelas*. However, this species occurred at a very low frequency in their study (0.04% of about 16,000 stomoxes sampled) and is highly associated with the forest canopy [42, 45]. The ecological niche of this species and the necessity to capture the flies on the canopy probably explain why we were unable to sample this species in the present study. In our study, the relative abundance of the different *Stomoxys* species did not show a clear pattern. The most abundant species were *S. inornatus* (24%) and *S. calcitrans* (19%), whereas the least abundant species was *S. transvittatus* (10.8%). These results differ slightly from the abundance obtained by Mavoungou et al. [43] for the same set of species in Gabon where the most abundant species were *S. niger niger* (33%) and *S. transvittatus* (33%), the other species being far less abundant. These differences could be explained by various factors. The genus *Stomoxys* shows different ecological preferences. For example, *S. calcitrans* is a cosmopolitan species associated with human activities and is frequently found in anthropized environments [60]. In their study in Kenya, Mihok et al. [47] also found a low frequency of this species in forest and woodland. Moreover, we found that most of *Stomoxys* species were trapped in secondary forest or savannah. These results are consistent with what has been published concerning the ecology of these flies and where most species are predominantly found in secondary forest [43, 45, 47]. It is hence possible that differences between the biotopes sampled and the season, when sampling was carried out, are the main drivers

of the incongruity between our results and those previously published. In Uganda, Harley [26] found that *Stomoxys omega* was more abundant in forested areas and *Stomoxys niger niger* and *S. calcitrans* did not show a clear preference. A sampling bias due to the light conditions in secondary forest could explain observed differences in published results, because higher luminosity in more open habitats could enhance the attractiveness of the traps.

The Tabanidae family represents 12%, but did not show a clear association with the different biotopes and climatic seasons sampled; it is difficult to extract a clear pattern. We identified six genera and two species, including *Tabanus par* and *Tabanus taeniola*. Different genera identified are known in the region [28] with a predominance of the genus *Tabanus* [44]. Some tabanid species are present in all the biotopes but predominate in only one biotope or season. This is the case for the genus *Chrysops* that predominates in the village during LDS in INP. The genus *Tabanus* is known to be abundant in many biotopes and throughout the different seasons [28, 44, 51]. In a study in the East of Gabon, Mavoungou et al. [44] found that the *Tabanus* species were mostly associated with forested biotopes, in particular secondary forest, whereas the *Chrysops* genus was mostly trapped in anthropized areas and villages. In Uganda, Harley [26] found that the Tabanidae of the genera *Tabanus* and *Ancala* were more abundant in open habitats. However, the multiple differences observed in our study concerning the species composition of hematophagous flies compared to previously published data probably result from the sensitivity of each species to environmental regional parameters. The low relative frequency of tabanids captured in our study could result either from the lower density of this taxonomic group in the biotopes sampled or from the low attractiveness of our traps. Some genus-specific trends are known to be associated with the various traps that have been designed for the capture of hematophagous flies including tabanids [4, 44]. The Vavoua trap is efficient for *Chrysops* sp. whereas the Nzi trap is more general for tabanids. However, these two traps have been designed for the capture of tsetse flies and stomoxes and may not be optimal to attract tabanids.

The seasonal pattern of fly abundance is a well-known phenomenon and has been described for all the families studied in the present study. For example, the different Glossinidae species show seasonal fluctuation roughly related to rainfall distribution with an increase of populations when rains start and a decrease along the dry season [9, 22]. However, this basic pattern is modulated by the local climatic parameters such as the length of the rainy season and the distribution of rains. As a result, the different Glossinidae species exhibit various patterns of population fluctuations related to local climate and vegetation [20, 23]. The fluctuations of abundance related to rain have also been described in the *Stomoxys* and Tabanidae species [5]. Tabanid activity is highly seasonal in the tropics. Frequently, a peak is observed during the rainy season although huge interspecific differences occur [4]. This probably explains why no clear pattern of seasonality could be extracted from our data. The seasonal pattern generally shows an increase of abundance during the rainy season although the different species can be captured throughout the year at lower abundance.

## 5. Conclusion

Up to recently, tsetse flies have been considered the most important taxonomic group among the African hematophagous flies due to their preponderant role in the transmission of African human trypanosomes. However, recently, the role of other hematophagous flies, like those belonging to the stomoxes and tabanids, in the transmission of many pathogens to humans and cattle has been reconsidered and these species are now recognized as the vector of many parasites, bacteria, and viruses [3, 9, 10]. In this context, enhancing the knowledge of the parameters that determine the density fluctuations of the various hematophagous flies in Central Africa is a fundamental prerequisite to minimize the contamination risk for human populations by the various pathogens for which these species have vectorial competence. The recent development of ecotourism in the different national parks of Gabon is also an emerging concern because it will increase the human presence in natural areas where hematophagous flies are present in high density. In the present study, we have provided new data on the variation of the different species' distribution and density according to biotopes and seasons in two national parks of Gabon. Our results confirm that the various species probably have different ecological optima, as shown by their pattern of occurrence in the traps along the different seasons but also that the densities of insects reach a minimum during the dry seasons. This could help to design optimal strategies to minimize the fly challenge to humans in these natural areas.

**Acknowledgements.** Financial support for this work was provided by the "Conseil Régional de Bourgogne", the "Service de Coopération et d'Action Culturelle" (SCAC) of the Embassy of France in Gabon, the "Institut Français" (IF) of Libreville, and the "Agence Universitaire de la Francophonie" (AUF). Fly sampling was carried out by permission of the research commission of "Centre National de Recherche Scientifique et Technologique" (CENAREST) and the "Agence National des Parcs Nationaux" (ANPN) of Gabon. We also thank Dr. Karine Monceau for her assistance in data analysis.

## References

1. Abebe G, Jobre Y. 1996. Trypanosomiasis: a threat to cattle production in Ethiopia. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 147, 897–902.
2. Acapovi G, Yao Y, N'goran E, Dia ML, Desquesnes M. 2001. Abondance relative des tabanidés dans la région des savanes de Côte d'Ivoire. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 54, 974–980.
3. Afrane YA, Lawson BW, Githeko AK, Yan G. 2005. Effects of microclimatic changes caused by land use and land cover on duration of gonotrophic cycles of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in Western Kenya Highlands. *Journal of Medical Entomology*, 42, 871–880.
4. Baldacchino F, Desquesnes M, Mihok S, Foil LD, Duvallat G, Jiltapalpong S. 2014. Tabanids: Neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection Genetics and Evolution*, 43, 3–29.
5. Baldacchino F, Muenworn V, Desquesnes M, Desoli F, Charoenviriyaphap T, Duvallat G. 2013. Transmission of pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera, Muscidae): a review. *Parasite*, 20, 20–26.
6. Buxton BA, Hinkle NC, Schultz RD. 1985. Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids. *American Journal of Veterinary Research*, 46, 123–126.
7. Cano J, Descalzo MA, Ndong-Mebale N, et al. 2007. Predicted distribution and movement of *Glossina palpalis palpalis* (Diptera: Glossinidae) in the wet and dry season in the Kogo trypanosomiasis focus (Equatorial Guinea). *Journal of Vector Ecology*, 32, 218–225.
8. Carn VM. 1996. The role of dipterous insects in the mechanical transmission of animal viruses. *British Veterinary Journal*, 152, 377–393.
9. Challier A. 1982. The ecology of tsetse (*Glossina* spp.) (Diptera, Glossinidae): a review. *Insect Science Application*, 3, 97–143.
10. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica*, 78, 103–116.
11. Desquesnes M, Biteau-Coroller F, Bouyer J, Dia ML, Foil D. 2009. Development of a mathematical model for mechanical transmission of trypanosomes and other pathogens of cattle transmitted by tabanids. *International Journal for Parasitology*, 39, 333–346.
12. Desquesnes M, Davila AM. 2002. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Veterinary Parasitology*, 109, 213–231.
13. Desquesnes M, Dia ML. 2004. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. *Veterinary Parasitology*, 119, 9–19.
14. Dibakou ES, Mounioko F, Zinga Koumba CR, Mbang Nguema OA, et al. 2015. Distribution des Glossines vecteurs de la Trypanosomose humaine africaine dans le Parc National de Moukalaba Doudou (Sud-Ouest Gabon). *Journal of Applied Biosciences*, 86, 7957–7965.
15. Dicko AH, Lancelot R, Seck MT, Guerrini L, Sall B, Lo M, Bouyer J. 2014. Using species distribution models to optimize vector control in the framework of the tsetse eradication campaign in Senegal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 10149–10154.
16. Finelle P, Itard J, Yvove P, Lacotte T. 1963. Répartition des glossines en R.C.A. État actuel des connaissances. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 16, 337–348.
17. Fournier DA, Skaug HJ, Ancheta J, Ianelli J, Magnusson A, Maunder MN, Sibert J. 2012. AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optimization Methods and Software*, 27, 233–249.
18. Galipaud M, Gillingham MAF, David M, Dechaume-Moncharmont FX. 2014. Ecologists overestimate the importance of predictor variables in model averaging: a plea for cautious interpretations. *Methods in Ecology and Evolution*, 5, 983–991.
19. Gilles J, David JF, Duvallat G, De la Rocque S, Tillard E. 2007. Efficiency of traps for *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* on Reunion Island. *Medical and Veterinary Entomology*, 21, 65–69.
20. Gouteux JP. 1990. Current considerations on the distribution of *Glossina* in west and central Africa. *Acta Tropica*, 47, 185–187.
21. Gouteux JP. 1982. Observations sur les glossines d'un foyer forestier de trypanosomiase humaine en Côte d'Ivoire 5.



- Peuplement de quelques biotopes caractéristiques : plantations, forêts et galeries forestières, en saison des pluies. Cahiers de l'ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie, 20, 46–61.
22. Gouteux JP, Jarry M. 1998. Tsetse flies, biodiversity and the control of sleeping sickness. Structure of a *Glossina* guild in southwest Côte d'Ivoire. Acta Oecologica, 19, 453–471.
  23. Gouteux JP, Laveissière C. 1982. Écologie des glossines en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. 4. Dynamique de l'écodistribution en territoire villageois. Cahiers de l'ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie, 20, 199–229.
  24. Gouteux JP, Noireau F, Frezil JL, Louembet MT. 1987. Comparaison morphologique des specimens congolais et Camerounais de *Glossina caliginea* Austen, 1911. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 80, 261–265.
  25. Gruvel J. 1975. Données générales sur l'écologie de *Glossina tachinoides* Westwood 1950, dans la réserve de Kalamaloué, vallée du Bas-Chari (I). Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, 28, 27–40.
  26. Harley JMB. 1965. Seasonal abundance and diurnal variations in activity of some *Stomoxys* and Tabanidae in Uganda. Bulletin of Entomological Research, 56, 319–332.
  27. Holmes E, Twiddy S. 2003. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. Infection Genetics and Evolution, 3, 19–28.
  28. Itard J, Finelle P, Rickenbach A. 1963. Contribution à l'étude des Tabanidae (Diptera) d'Afrique Centrale, les Tabanidae de la République Centrafricaine. Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, 16, 159–173.
  29. Itard J, Jeannin P, Leak SGA. 1984. Présence, au Gabon, de *Glossina nashi* Potts, 1955 (Diptera: Muscidae). Compte Rendus des Séances de l'Académie de Sciences, Série 3. Sciences de la Vie, 298, 315–316.
  30. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature, 451, 990–993.
  31. Kaminsky R. 1987. Tsetse ecology in a Liberian rain-forest focus of Gambian sleeping sickness. Medical and Veterinary Entomology, 1, 257–264.
  32. Kone N, De Meeûs T, Bouyer J, Ravel S, Guerrini L, N'goran EK, Vial L. 2010. Population structuring of the tsetse *Glossina tachinoides* resulting from landscape fragmentation in the Mouhoun River basin, Burkina Faso. Medical and Veterinary Entomology, 24, 162–168.
  33. Kone N, N'goran EK, Sidibe I, Kombassere AW, Bouyer J. 2011. Spatio-temporal distribution of tsetse and other biting flies in the Mouhoun River basin, Burkina Faso. Medical and Veterinary Entomology, 25, 156–168.
  34. Krafur ES. 2009. Tsetse flies: genetics, evolution, and role as vectors. Infection Genetics and Evolution, 9, 124–141.
  35. Lancelot R, Lesnoff M, McDermott JJ. 2002. Use of Akaike information criteria for model selection and inference an application to assess prevention of gastrointestinal parasitism and respiratory mortality of Guinean goats in Kolda, Senegal. Preventive Veterinary Medicine, 55, 217–240.
  36. Laveissière C, Grebaut P. 1990. Recherches sur les pièges à glossines (Diptera : Glossinidae). Mise au point d'un modèle économique : Le piège «Vavoua». Tropical Medicine and Parasitology, 41, 185–192.
  37. Laveissière C, Hervouët JP. 1981. Population de glossines et occupation de l'espace. Enquête entomologique préliminaire dans la région de la Lobo (Côte-d'Ivoire). Cahiers de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie, 19, 247–260.
  38. Leack SGA, Jeannin P. 1984. Occurrence of *Glossina nashi* Potts, 1955 (Diptera: Glossinidae) in Republic of Gabon. Zeitschrift für Parasitenkunde, 70, 685–686.
  39. Maillot L. 1962. Notice pour la carte chronologique des principaux foyers de la maladie du sommeil dans les états de l'ancienne fédération d'Afrique Équatoriale Française. Bulletin de l'Institut de Recherches Scientifiques au Congo, 1, 45–54.
  40. Maillot L. 1961. Répartition des glossines et maladie du sommeil: les races géographiques. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 54, 856–869.
  41. Matthews L, Woolhouse M. 2005. New approaches to quantifying the spread of infection. Nature Reviews Microbiology, 3, 529–536.
  42. Mavoungou JF, Gilles J, Duvallet G. 2007. *Stomoxys xanthomelas* Roubaud, 1937: une espèce de la canopée en Afrique Équatoriale? (Diptera, Muscidae). Bulletin de la Société Entomologique de France, 112, 481–483.
  43. Mavoungou JF, Jay-Robert P, Gilles J, Atsame E, Duvallet G. 2008. Ecology of *Stomoxys* flies (Diptera: Muscidae) in Gabon. First survey in different ecological areas. Parasite, 15, 27–34.
  44. Mavoungou JF, Makanga B, Acapovi-Yao GL, Desquesnes M, M'Batchi B. 2012. Chorologie des Tabanidae (Diptera) dans la réserve de biosphère Ipassa-Makokou (Gabon) en saison des pluies. Parasite, 19, 165–171.
  45. Mavoungou JF, Picard N, Kohagne L, M'batchi B, Gilles J, Duvallet G. 2013. Spatio-temporal variation of biting flies, *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae), along a man-made disturbance gradient, from primary forest to the city of Makokou (North-East, Gabon). Medical and Veterinary Entomology, 10, 1365–2915.
  46. Mihok S. 2002. The development of a multipurpose trap (the Nzi) for tsetse and other biting flies. Bulletin of Entomological Research, 92, 385–403.
  47. Mihok S, Kang'Ethé EK, Kamau GK. 1995. Trials of Traps and Attractants for *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae). Journal of Medical Entomology, 32, 283–289.
  48. Moncayo AC, Fernandez Z, Ortiz D, Diallo M, Sall A, Hartman S, Weaver SC. 2004. Dengue emergence and adaptation to peridomestic mosquitoes. Emerging Infectious Diseases, 10, 1790–1796.
  49. Njiokou F, Laveissière 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, 147–153.
  50. Noireau F. 1991. Possibilités de lutte contre la loase et la filariose à *Mansonella persians*. Bulletin de Liaison et de Documentation – OCEAC, 98, 23–26.
  51. Ovazza JP, Bailly-Choumara H. 1959. Contribution à l'étude des tabanides d'Afrique Occidentale Française III. Tabanides de Guinée. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 3, 366–373.
  52. R Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. Available at: <http://www.R-project.org>
  53. Rageau J, Adam JP. 1953. Répartition des glossines au Cameroun français (1953). Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, 6, 73–76.
  54. Simo G, Njiokou F, Mbida Mbida JA, Njitchouang GR, Herder S, Asonganyi T, Cuny G. 2008. Tsetse fly host preference from sleeping sickness foci in Cameroon: epidemiological implications. Infection Genetics and Evolution, 8, 34–39.

55. Woolhouse M, Gaunt E. 2007. Ecological origins of novel human pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*, 33, 231–242.
56. Woolhouse MEJ, Howey R, Gaunt E, Reilly L, Chase-Topping M, Savill N. 2008. Temporal trends in the discovery of human viruses. *Proceedings of the Royal Society B*, 275, 2111–2115.
57. Yvoré P, Lacotte R, Finelle P. 1965. Étude de la biologie et de l'écologie de *Glossina fusca congolensis* Newst et Evans en République Centrafricaine. 1. Influence du climat et de la végétation sur la répartition et la densité des glossines. 2. Gîtes de repos, activité diurne. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 18, 151–164.
58. Zinga Koumba CR, Bouyer J, Mavoungou JF, Acapovi-Yao GL, Kohagne Tongué L, Mbang Nguema OA, Ondo KPO, Mutambwe S. 2013. Évaluation de la diversité des diptères hématophages dans une clairière marécageuse du Gabon à l'aide des pièges Vavoua et Nzi. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 66, 91–96.
59. Zinga Koumba CR, Mbang Nguema OR, Kohagne Tongué L, Acapovi Yao GL, Ondo KPO, Mutambwe S, Mavoungou JF. 2014. Contribution à l'évaluation de la diversité des vecteurs biologiques de la trypanosomose humaine africaine et de leur activité journalière dans le Parc National de l'Ivindo (Nord-Est du Gabon). *Journal of Applied Biosciences*, 80, 7060–7070.
60. Zumpt F. 1973. The Stomoxyinae biting flies of the world, in *Taxonomy, Biology, Economic Importance and Control Measures*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart. p. 175.

**Cite this article as:** Bitome Essono PY, Dechaume-Moncharmont F-X, Mavoungou J, Obiang Mba R, Duvallet G & Bretagnolle F: Distribution and abundance of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae) in two national parks of Gabon. *Parasite*, 2015, xx, xx.

**Cite this article as:** Bitome Essono PY, Dechaume-Moncharmont F-X, Mavoungou J, Obiang Mba R, Duvallet G & Bretagnolle F: Distribution and abundance of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys*, and Tabanidae) in two national parks of Gabon. *Parasite*, 2015, xx, xx.

## PARASITE

An international open-access, peer-reviewed, online journal publishing high quality papers on all aspects of human and animal parasitology

Reviews, articles and short notes may be submitted. Fields include, but are not limited to: general, medical and veterinary parasitology; morphology, including ultrastructure; parasite systematics, including entomology, acarology, helminthology and protistology, and molecular analyses; molecular biology and biochemistry; immunology of parasitic diseases; host-parasite relationships; ecology and life history of parasites; epidemiology; therapeutics; new diagnostic tools.

All papers in *Parasite* are published in English. Manuscripts should have a broad interest and must not have been published or submitted elsewhere. No limit is imposed on the length of manuscripts.

*Parasite* (open-access) continues *Parasite* (print and online editions, 1994-2012) and *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* (1923-1993) and is the official journal of the Société Française de Parasitologie.

Editor-in-Chief:  
Jean-Lou Justine, Paris

Submit your manuscript at  
<http://parasite.edmgr.com/>

### IV.3] Synthèse des principaux résultats du chapitre I

---

Nous avons étudié de façon saisonnière la phénologie des mouches hématophages (glossines, stomoxes, tabanides), leur abondance relative et leur distribution dans 5 biotopes caractéristiques des parcs nationaux de l'Ivindo (PNI) et de Moukalaba-Doudou (PNMD) au Gabon.

Globalement, l'abondance relative de ces mouches hématophages est approximativement la même entre le parc national de l'Ivindo (DAP = 6.78), situé au nord-est du Gabon, et celui de Moukalaba-Doudou (DAP = 8.15), situé au sud-ouest du pays. Pourtant les écosystèmes des deux parcs sont relativement différents, l'un (PNI) fortement dominé par un écosystème forestier et l'autre (PNMD) dominé par une mosaïque de type forêt-savane. Cela pourrait envisager l'existence de même type de micro-habitats et de microclimat dans les deux parcs.

La richesse spécifique des différents groupes taxonomiques est la même dans les deux parcs nationaux. Nous identifions les mêmes espèces de mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) dans les deux parcs, à la seule différence de *Glossina tabaniformis* qui semble être rare dans le parc national de l'Ivindo. Ce résultat peut paraître absurde dans la mesure où cette espèce du groupe *fusca* (sous-genre *Austenina*) est plutôt retrouvée dans un écosystème mosaïque forêt-savane et pas dans une zone essentiellement forestière. En effet, les espèces groupe *fusca* sont principalement forestières (Machado, 1959; Finelle et al., 1963; Challier, 1982). En raison de leur grande taille, elles prennent souvent leur repas sanguin sur des grands mammifères forestiers capables de supporter leurs piqûres douloureuses et semblent avoir du mal à changer leurs habitudes alimentaires (Gouteux, 1991; Gouteux et al., 1994). En absence de leurs principaux hôtes dans un milieu, cette espèce devient rare et peut même complètement disparaître comme ça a été rapporté en République Centrafricaine (Gouteux et al., 1994). L'ensemble des glossines représente 60% des mouches hématophages capturées dans cette étude, contre seulement 28% de stomoxes et 12% de tabanides. Fortement dominées par *G. palpalis palpalis*, 6 espèces de glossines cohabitent dans les différents biotopes prospectés avec 6 autres espèces de stomoxes et 2 espèces tabanides. De façon générale, un habitat comprend deux ou trois espèces de glossines (Gouteux et al., 1997). La présence d'une seule espèce indique souvent les modifications anthropiques et la présence de plus de trois est extrêmement rare. Souvent, la cohabitation de plusieurs

espèces de mouches hématophages dans de mêmes milieux suscite des questions de concurrences interspécifiques pour la ressource et généralement une espèce plus robuste finie par avoir raison des autres. Pourtant la cohabitation de plusieurs espèces de mouches hématophages a déjà été rapportée (Challier & Gouteux, 1980; Gouteux & Jarry, 1998; Mavoungou et al., 2008a; Zinga et al., 2013), aussi pour les glossines, les stomoxes et les tabanides. Cette cohabitation conflictuelle peut réussir lorsque les différentes espèces ne partagent pas toutes les même habitudes alimentaires et que la ressource est donc abondante (voire Weitz et al., 1963; Clausen et al., 1998). Ainsi dans un même groupe taxonomique, les différentes espèces peuvent ne pas se nourrir sur les mêmes hôtes. Leurs activités journalières vont de ce fait différer en fonction de celles de leurs hôtes respectifs. Et même pour une même espèce, il peut arriver que mâles et femelles ne partagent pas les préférences alimentaires. Cela a été observé chez les glossines, où mâles et femelles des espèces *G. austeni* et *G. fuscipes fuscipes* ne se nourrissaient pas préférentiellement sur les mêmes hôtes (Jordan & Curtis, 1968; Waiswa et al., 2006).

Les glossines montrent une forte préférence écologique pour les milieux forestiers, type forêt primaire et camp de recherche ; alors que les stomoxes semblent être inféodés aux milieux ouverts, type forêt secondaire, savane et village. Il est bien connu que la présence de glossines dans un milieu dépend de l'action conjuguée de plusieurs paramètres écologiques tels que le microclimat, la végétation ombragée et surtout la présence des hôtes nourriciers (Ford, 1970; Laveissière & Hervouët, 1981). De tous ces paramètres, la présence d'hôtes nourriciers semble être indispensable à la présence de ces mouches hématophages dans un milieu. D'ailleurs, il a été rapporté plusieurs fois que la répartition des glossines est souvent corrélée à celle de leurs hôtes vertébrés (Challier, 1971; Allsopp et al., 1979; Gouteux et al., 1982; Dagnogo et al., 1985; Laveissière et al., 1985). Parmi les hôtes préférés des glossines, particulièrement *Glossina palpalis palpalis*, figure l'antilope *Tragelaphus spekii*, communément appelée Sitatunga (Laveissière et al., 1985; Njiokou et al., 2004; Simo et al., 2008; Farikou et al., 2010). Cette espèce des milieux forestiers pourrait expliquer la présence des glossines dans ce biotope. La présence humaine dans les camps de recherches d'autre part, pourrait expliquer la présence des glossines dans ce biotope dans la mesure où l'homme représente également un des hôtes préférés de *G. palpalis palpalis* (Laveissière et al., 1985). Ce principe de répartition des mouches hématophages en fonction de leurs hôtes pourrait

également expliquer la répartition des stomoxes. Ces mouches se nourrissent préférentiellement des grands mammifères à sang chaud comme des buffles (Hafez & Gamal-Eddin, 1959), souvent retrouvés dans les milieux ouverts comme les savanes ou les forêts secondaires. Les stomoxes se nourrissent également d'animaux domestiques comme des chèvres et des moutons (Hafez & Gamal-Eddin, 1959), pouvant expliquer leur forte présence dans les milieux anthropisés. Le comportement plus ou moins ambigu des tabanides, avec uniquement les femelles fécondées qui se nourrissent de sang de vertébrés (Mullen, 2002), peut expliquer leur répartition hétérogène sur l'ensemble des biotopes prospectés.

Dans l'ensemble, l'abondance relative des mouches hématophages présente deux pics suivant les saisons climatiques. Un premier pic durant la petite saison sèche, puis un autre pendant la grande saison sèche. Cette observation semble indiquer l'activité des mouches hématophages d'une part, mais aussi la possibilité de bien capturer ces mouches. En effet, les saisons de pluies en région tropicale sont marquées par des grandes pluies orageuses. Durant cette saison, il peut pleuvoir quatre à cinq fois dans la journée avec des grandes pluies orageuses pouvant durer jusqu'à 45 minutes ou 1 heure. Les mouches hématophages sont non seulement moins actives, mais les vents relativement forts qui font régulièrement tomber les pièges nous laissent aussi peu de chance d'en capturer. Paradoxalement, c'est durant cette saison qu'il fait le plus chaud dans cette région et que les mouches hématophages devraient être plus actives (Terblanche et al., 2008). En revanche, la saison sèche est marquée par un ciel souvent couvert le matin, avec une apparition de quelques rayons de soleil l'après-midi. Les mouches hématophages ne sont peut-être pas plus affamées, mais les conditions climatiques permettent de mieux les capturer.

En somme, les mouches hématophages abondent dans les parcs nationaux prospectés, où plusieurs facteurs écologiques sont réunis pour leur prolifération. Les saisons sèches constituent les périodes de l'année où elles semblent être plus actives, avec de fortes proportions de glossines en milieux ombragés. Même si la présence des vecteurs potentiels est avérée, il serait précocement de parler de risque de transmission de maladies avant de savoir si ces mouches hématophages piquent l'homme dans ces milieux riches en faune sauvage; et si elles sont infectées aux pathogènes humains.

**Régime alimentaire des glossines (Diptère: *Glossina*), risque de transmission de  
THA dans trois parcs du Gabon.**

## V.1] Introduction générale du chapitre II

---

Ce chapitre est rédigé en anglais sous forme d'article scientifique. Il fait l'objet d'une publication en préparation.

La trypanosomiase humaine africaine (THA), communément appelée maladie du sommeil, constitue une cause de morbidité et de mortalité importante en Afrique subsaharienne. La forme animale de la maladie inflige d'énormes pertes économiques à l'industrie agricole. Cependant, la dynamique du parasite animal ou humain dépend fortement des habitudes alimentaires des vecteurs, raison pour laquelle le comportement alimentaire des glossines fait l'objet de nombreuses études depuis plusieurs décennies (Buxton, 1955; Weitz, 1963; Clausen et al., 1998; Njiokou et al., 2004; 2006; Simo et al., 2008; Farikou et al., 2010). Le rôle du réservoir animal dans le maintien et la recrudescence de la THA dans certains anciens foyers d'Afrique Centrale ne fait plus aucun doute (Herder et al., 2002; Njiokou et al., 2004; 2006; Simo et al., 2008; Kohagne et al., 2010; 2011), mais les habitudes alimentaires des mouches hématophages restent encore peu étudiées en milieux naturels dans cette région. Plusieurs espèces animales ont été retrouvées infectées aux trypanosomes, aussi bien les animaux domestiques (porcs, chèvres, moutons) que les animaux sauvages (artiodactyles, carnivores, primates), illustrant la diversité du réservoir animal.

La compréhension des habitudes alimentaires des mouches hématophages constitue donc une étape majeure dans la compréhension des interactions hôtes-vecteurs nécessaires pour l'élaboration des modèles de transmission d'agents pathogènes. Cependant, il est bien connu que les habitudes alimentaires des mouches hématophages varient selon la disponibilité des hôtes dans le milieu (Allsopp et al., 1979; Gouteux et al., 1982; Dagnogo et al., 1985; Laveissière et al., 1985). Elles peuvent être spécialistes d'un type d'hôte lorsque la ressource est abondante et généraliste lorsqu'elle est limitée. Dans ce second cas de figure, les mouches hématophages se nourrissent de plusieurs espèces de vertébrés et exposent ainsi leurs hôtes à la transmission biologique et mécanique de divers agents pathogènes, notamment les trypanosomes (Sane et al., 2000; Herder et al., 2002; Simo et al., 2008). C'est pour identifier des potentiels réservoirs de trypanosomes d'une part, et les différents hôtes exposés à la transmission de l'autre, que nous tentons de déterminer les différents hôtes nourriciers de six espèces de glossines dans trois parcs du Gabon.

**HOST PREFERENCES OF GLOSSINIDAE (DIPTERA: *GLOSSINA*) BASED ON BLOODMEAL IDENTIFICATIONS IN 3 PARKS OF GABON.**

BITOME ESSONO P.Y.<sup>1,2,3</sup>, OLLOMO B.<sup>2\*</sup>, GRÉBAUT P.<sup>4</sup>, NJIOKOU F.<sup>5</sup>, OBIANG MBA R.<sup>6</sup>, PAUPY C.<sup>2,7\*</sup>, PRUGNOLLE F.<sup>2,7\*</sup> & BRETAGNOLLE F.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Biogéosciences Unit, UMR 6282 Université de Bourgogne, 6 Boulevard Gabriel 21000 Dijon-France

<sup>2</sup>Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), BP 769 Franceville-Gabon

<sup>3</sup>Institut de Recherche en Écologie Tropicale (IRET-CENAREST), BP 13354 Libreville-Gabon

<sup>4</sup>INTERTRYP Unit, UMR 177 IRD-CIRAD, Campus International de Baillarguet, TA A17/G, 34398 Montpellier Cedex 5-France

<sup>5</sup>Département de Biologie Animale et Physiologie, Laboratoire de Parasitologie et Ecologie, Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1, BP 812, Yaoundé-Cameroun

<sup>6</sup>Centre de Recherche Médicale de Lambaréné, Albert Schweitzer, BP 118, Lambaréné, Gabon

<sup>7</sup>MIVEGEC Unit, UMR 224-5290 CNRS-IRD-UM, Centre IRD de Montpellier, BP 64501, 34394 Montpellier-France

\*Co-managed the project

**Key words:** Hematophagous flies, blood meals, wildlife, human activities, climatic seasons, national parks, Gabon.

**Corresponding author:** Paul Yannick BITOME ESSONO

E-mail: [bitomessono@yahoo.fr](mailto:bitomessono@yahoo.fr)



## HOST PREFERENCES OF GLOSSINIDAE (DIPTERA: *GLOSSINA*) BASED ON BLOODMEAL IDENTIFICATIONS IN 3 PARKS OF GABON.

BITOME ESSONO P.Y.<sup>1,2,3</sup>, OLLOMO B.<sup>2\*</sup>, GRÉBAUT P.<sup>4</sup>, NJIOKOU F.<sup>5</sup>, OBIANG MBA R.<sup>6</sup>, PAUPY C.<sup>2,7\*</sup>, PRUGNOLLE F.<sup>2,7\*</sup> & BRETAGNOLLE F.<sup>1\*</sup>

### **Abstract:**

Understanding the tsetse diet is a major step in understanding host-vector interactions necessary for the elucidation of disease transmission models. We captured 2475 tsetse flies belonging to six different species: 61% of *Glossina palpalis palpalis*, 13% of *G. fuscipes fuscipes*, 10% of *G. fusca congolense*, 7% of *G. pallicera newsteadi*, 6% of *G. caliginea* and 3% of *G. tabaniformis*. Of these 2475 tsetse flies, we extracted 1097 blood meals and identified the vertebrate hosts of 417 samples of blood meals. Tsetse species have a diverse diet including humans, wild mammals, reptiles and birds. Overall, wildlife represents 86% of blood meals identified while humans represent only 14%. But in environment inhabited by man, the blood meals of human origin are very important: 100% in villages and 24% in research camps. We see a host preference for Bovidae which represent 70% of blood meals with 30% of *Syncerus caffer*, 21% of *Tragelaphus spekii* and 16% of *Cephalophus silvicultor*. From the 417 blood meals collected 21% are infected with the trypanosomes: 27% *Trypanosoma vivax*, 20% *Trypanosoma congolense*, 19% *Trypanosoma brucei* and 4.5% *Trypanosoma simiae*. The identified trypanosome species did not appear to be specific to the host, the majority of animal host species were infected by all trypanosomes species identified.

## Introduction

The hematophagous tsetse flies belonging to the genus *Glossina*, are the main biological vector of human and animal trypanosomes causing the sleeping sickness or trypanosomiasis (Reifenberg et al. 1997; Solano et al. 1999; Kazadi 2000; Torr and Vale 2015). The Human African Trypanosomiasis (HAT) is the main disease responsible for morbidity and mortality in sub-Saharan Africa and may also be transmitted by stomoxes and tabanids through a mechanical transmission (Mihok et al. 1995; Foil and Gorham 2000; Desquesnes and Davila 2002; Desquesnes and Dia 2004; Brun et al. 2010; Rodriguez et al. 2014). The epidemiology of human and animal trypanosomiasis is complex, particularly in Central Africa where a huge geographical heterogeneity of the disease prevalence have been documented (Simo et al. 2008; 2012a; Simarro et al. 2011). One of an explanatory hypothesis to explain this pattern result from the nutritional preferences of the flies and the role of wild and domestic animals as reservoir for the trypanosomes (Herder et al. 2002; Abenga and Lawal 2005; Simo et al. 2008). Many species in tropical Africa have been found to host the human trypanosome including domestic and wild pigs but also rodents, monkeys, carnivores and Artiodactyles suggesting that the parasite has the capacity to persist in alternative hosts in natural habitats (Molyneux 1973; Mehlitz et al. 1982; Herder et al. 2002; Njiokou et al. 2004; 2006). To understand the epidemiological role played by the wild fauna in sleeping sickness but also the other potential disease that the tsetse could transmit, it is important to fully determine the potential vertebrate host of the different species in Africa. Such host inventory is also important in order to understand the complex relationship between nutritional behaviour of the species and the relative density of vertebrates including humans and domestic animals. The trypanosomes cycle is dependent of the hematophagous vector for its transmission. In tsetse species, both male and female fed on animal blood and host choice is a complex process that ultimately depend on ecological and evolutionary constraints. The feeding behaviour of the different tsetse species have been investigated since many decades in Africa (Buxton 1955; Weitz 1963; Allsopp et al. 1979; Laveissière et al. 1985; Kohagne et al. 2010). The diet of tsetse flies can be influenced by the availability of resources in environment. When a particular resource is abundant, the flies could feed preferentially on this host. However, when no particular resource are abundant, several studies have demonstrated a flexibility in the feeding pattern of the tsetse flies that can be specific to an area and the

can show temporal variation (Farikou et al. 2010). In this case, the tsetse will show an opportunistic feeding behaviour and the insects will feed on many vertebrates species (Burkett-Cadena et al. 2008; Muturi et al. 2011). These vertebrates are then exposed to biological or mechanical transmissions from multiple pathogens (Sane et al. 2000; Herder et al. 2002; Simo et al. 2008).

In East and West Africa, several exhaustive studies showed that the tsetse flies fed on a wide diversity of vertebrate but predominantly on mammals and reptiles (Weitz 1963; Clausen et al. 1998; Waiswa et al. 2006). Among the mammals, the Bovidae and the Suidae family is largely preferred whereas other species including primates (apart humans) are relatively infrequent although consistent variation may occur (see Weitz 1963; Clausen et al. 1998). However, the feeding strategies of the different tsetse species differ both in the host species and their frequency in the blood meal sample (Weitz 1963; Clausen et al. 1998). Based on the host most frequently determined in blood meal, it was possible to group the species according to their specialization on host. Several species were specialized on Suidae family whereas other were specialized on Bovidae family. A third group fed equally on the Suidae and Bovidae family whereas a fourth group fed on mammals avoiding the Suidae and the Bovidae. Finally, a last group consist of opportunist species that fed the most available host including man. Such specialization could explain the viable coexistence of several species in the same environment (see Bitome Essono et al. 2015). In West Africa many studies have shown that human and cattle account for the great majority of blood meals of the different tsetse flies (Bouyer et al. 2009; Koné et al. 2011; Hoppenheit et al. 2013). Moreover, it has been suggested that the rarefaction and the desperation of wild fauna was responsible for the shift of host preference for several tsetse species or the desperation of other tsetse species. For example, the desperation or the rarefaction of the forest tsetse of the *fuscus* group in the south of Central African Republic have been related to the elimination of wild mammals suggesting that these species were not flexible in host preference (Gouteux 1991; Gouteux et al. 1994). In Central Africa, some studies have documented the feeding habits of the different tsetse species in the historical sleeping sickness foci (Njiokou et al. 2004; 2006; Simo et al. 2008; Farikou et al. 2010; Kohagne et al. 2010; 2011). In south Cameroun, the main feeding host of *Glossina palpalis palpalis* and *G. pallicera* was human and domestic animals (mostly pigs, but also goat and sheep) whereas the predominant wild animals were the antelope Sitatunga (*Tragelaphus spekeii*) and more rarely several

duiker species and reptiles (Njiokou et al. 2004; Simo et al. 2008; Farikou et al. 2010). In Central African Republic, the main feeding host of *Glossina fuscipes fuscipes* a species of the palpalis group, were mammals of the Bovidae family (*Cephalophus sp.*, *Kobus ellipsiprymnus*, *Tragelaphus scriptus*), mammals of the Suidae family and a high frequency of reptiles among which *Varanus niloticus* and crocodiles (Gouteux et al. 1994).

However, in Central African studies, the insects were trapped around the historical sleeping sickness foci and the sample size of blood meal analysed was very low. Very few studies have documented the feeding habits of the different tsetse species in natural habitats in this part of Africa. Furthermore, until recently the identification of host blood meals required a preliminary collection of reference host blood to which it was compared through different serological (precipitin and haemagglutination test, ELISA) or PCR techniques (Clausen et al. 1998; Mukabana et al. 2002; Steuber et al. 2005; Kohagne et al. 2010; Muturi et al. 2011; Simo et al. 2012b). In particular, the feeding patterns of hematophagous flies have been tracked by the analysis of blood meals using a PCR-RFLP or PCR heteroduplex assay (Njiokou et al. 2004; 2006). Again such methods necessitate the constitution of a preliminary reference collection. As a result, many blood meals remain unidentified simply because the hosts were not included in the reference collection. The recent development of new approach involving the amplification and the sequencing of fragment of the cytochrome b or cytochrome c oxydase 1 (COI) as a DNA barcode for species identification enable the complete scan of the feeding strategies of the tsetse flies. In the present study, we have sampled several species of tsetse flies in three different areas of Gabon and determined both the hosts where blood meals were taken and the presence in the blood and the flies of the different trypanosome species.

## **Materials and Methods**

### **Study sites**

The study areas consisted of three Gabonese protected areas (fig 1): the Moukalaba-Doudou national park "MDNP" (S: 2° 26' 08" / E: 10° 25' 18"), the Lopé national park "LNP" (S: 0° 31' 31" / E: 11° 32' 34") and the private Lékédi park "LP" (S: 1° 45' 32" / E: 13° 03' 16"). The MDNP, localized in the south-western part of the country, have been largely logged and is dominated by secondary and mature forest and a mosaic of forest-savannah. As the MDNP, the LPN, localized in the Central part of the country, is dominat-

ed by mature forest with some mosaic forest-savannah. The LP is a private park, localized in the south-east of the country and dominated by large savannah and some secondary forest.

The climate of Gabon, humid and equatorial, is characterized by two alternating dry and rainy seasons. The low dry season occurs from december to march and is followed by the heavy rainy season from march to june. The heavy dry season occurs from june to september and is ended by the low rainy season from september to december.

### **Sampling strategy**

Hematophagous flies were sampled during both the rainy and the dry season between 2012 and 2014. In MDNP, hematophagous flies were sampled during two years following a human activity transect from the primary forest to villages. In the other parks, flies were sampled during one year. In all parks, the hematophagous flies were captured with two different traps: the Vavoua and Nzi trap (Laveissiere and Grebaut 1990; Acapovi et al. 2001; Mihok 2002; Gilles et al. 2007). The Vavoua trap, initially developed for the capture of Glossinidae was also successfully used for the capture of *Stomoxys* on "the Réunion Island" (Laveissiere and Grebaut 1990; Gilles et al. 2007). The Nzi trap was more adapted to the capture of *Glossina pallidipes* and Tabanids in Africa (Acapovi et al. 2001; Mihok 2002). In each park, we used a total of 24 traps (12 Vavoua and 12 Nzi) during seven consecutive days. The sampling was done once every season in each park. Each trap was activated from 7:00 AM to 5:00 PM.

### **Identification and dissection of hematophagous flies**

The identification of tsetse species collected was made using a binocular microscope just after each collect. Species of Glossinidae was determined following the Pollock's standard procedure (1982) and the Brunhes et al. procedure (1998) according to their morphological characteristics such as size, color, wing venation structure and proboscis (see also Bitome Essono et al. 2015).

After species identification, engorged flies were dissected individually in a drop of Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS 1X) to isolate blood meals from midgut. The drop of the DPBS solution helps keep viable nucleic acids (DNA and RNA) in room temperature before transferring into the stabilizing solution. Each hematophagous fly was dissected onto a slide using one forceps and a scalpel. Between two flies the dissection instruments were changed to avoid contaminations. The blood was transferred and conserved in a 1.5 ml microtube containing 50 µl of RNAlater (Qiagen: Store at RT Tissue

Collection) solution to stabilize nucleic acids. The RNAlater is a stabilizing solution of the nucleic acids (DNA and RNA) present in human and animal tissues. We used this solution to preserve nucleic acids of vertebrate host and pathogens (trypanosomes) contained in our blood meals. Samples were kept at ambient temperature until extraction of nucleic acids (DNA).

### **DNA extraction**

The nucleic acid extractions have been realized in the International Center for Medical Research of Franceville. Samples were centrifuged 10 min at 15000 rpm at 4°C to remove RNA later. The pellet was used to extract using DNeasy blood and tissue kit Qiagen (QIAamp DNA Blood Mini Kit) according to the manufacturer's instructions. Extracted DNA were eluted in 100 µl of buffer AE and stored at -20°C.

### **DNA amplification for hosts' identification**

The determination of hosts was done using total DNA by the amplification of a 450 bp portion of the Cytochrome b (Cytb) gene using previously published primers (Boakye et al. 1999). PCR amplifications were performed using a GeneAmp 9700 thermal cycler (Applied Biosystems, USA) with 50 µL reaction mixes containing 4 µL of template DNA, 10 mM of Tris-HCl (pH=9), 50 mM of KCl, 3 mM of MgCl<sub>2</sub>, 20 pmol of each primer (5'CCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA3' and 5'CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA3'), 200 mM of dNTP and 1U of Taq polymerase. The thermal cycling conditions consisted of 3.5 min at 95°C, 40 cycles of 30s at 95°C, 50s at 58°C, and 40s at 72°C, followed by 5 min at 72°C. When the Cytb amplification failed, we amplified a 330 bp and/or a 660 bp fragments of the Cytochrome Oxydase subunit I gene using primers and protocols previously described (Townzen et al. 2008). All PCR-amplified products (10 µl) were run on 1.5% agarose gels in TBE buffer, and positive products were sent to Beckman Coulter Genomics (France) for sequencing in both strands after purification.

### **DNA amplification for trypanosomes identification**

The detection of trypanosomes parasites was done using the amplification of a portion of the Cytochrome b (Cytb) gene using a ITS1 PCR that amplifies the species groups of mammalian Trypanosomes according to protocols used by Desquesnes et al. (2001). PCR-amplified products (15µL) were run on 1.5% agarose gels in TBE buffer to discriminate using the size among the four *Trypanosoma group* species (fig 2): *Trypanosoma congolense* (620-700 pb), *T. brucei* (480 pb), *T. simiae* (400 pb), *T. vivax* (250 pb). The detection was realized both on flies' carcass and on blood meals extracted from the ani-

mal gut. In several cases, we were not able to identify the host. However we still managed to amplify, in such blood samples, the trypanosome DNA.

### **Sequencing alignment and analyses**

All samples that were positive to the different PCR amplifications were sent to be sequenced in the Eurofine group. The sequences obtained were compared with existent sequences using the NCBI nucleotide Blast search to determine hosts species (Altschul et al. 1990; Benson et al. 2010). Each identification was confirmed from 98% similarity to the reference sequence.

### **Data analysis**

We calculated the apparent density by trap (ADT) index in order to estimate the relative abundance of each vector species in the different sampled parks according to climatic seasons. The ADT index was calculated as:  $ADT = \text{number of captured flies} \times (\text{number of traps} \times \text{number of days})^{-1}$ . We have also calculated the zoophile-anthropophilic (Za) index to estimate dietary opportunism of hematophagous flies. This index was calculated as:  $Za = \text{number of blood meals from animals} \times (\text{number of blood meals from man})^{-1}$ .

The effect of parks and climatic seasons on number of flies captured was assessed using the generalized linear models with mixed-effect. To assess the influence of parks and seasons the ADT index, a full linear model mixed effect with Gaussian distribution was defined including parks and seasons as co-variables. To assess the influence of parks and seasons on the number of blood meals identified, a full linear model mixed effect with binomial distribution was defined including parks and seasons as co-variables. In both linear models the parks are considered as random effect. All analysis were performed with R statistical software version 3.2.2 with glmmADMB package.

### **Results**

2475 tsetse flies were caught and dissected in 3 parks studied, including *Glossina palpalis palpalis* (61%), *G. fuscipes fuscipes* (13%), *G. fusca congolense* (9.3%), *G. pallicera newsteadi* (7%), *G. caliginea* (6.4%) and *G. tabaniformis* (3.3%). The six tsetse species are distributed throughout all parks prospected except *G. tabaniformis* (fig 3). This species of *fusca* group is observed only in Moukalaba-Doudou national park and not in the others parks. However we did not observe any difference in the distribution of tsetse flies through the different parks ( $Z=0.85$ ,  $P\text{-value}=0.4$ ). We found that the activity of the tsetse flies differs depending on climatic seasons (fig 4). Except *G. tabaniformis* where the

difference is not visibly marked, all tsetse species captured in this study seem to be most active in dry season ( $Z=2.34$ ,  $P\text{-value}=0.02$ ).

Of the 2475 captured flies, 1097 (45%) had an exploitable blood meals and hosts were identified for 417 (38%) of these blood meals. Overall, 21 host species, belonging to 12 families and 8 orders have been identified (Table 1). We observe a diversified diet in hematophagous flies including human, terrestrial and aquatic mammals, reptiles and birds. Some taxonomic orders seem to be still more represented than others. It is the case for Artiodactyla that was found in 70% of identified blood meals with two major species: 43% of forest buffalo (*Syncerus caffer*); 30% of Sitatunga antelope (*Tragelaphus spekii*) and 23% of yellow-backer duiker (*Cephalophus silvicultor*). These flies also feed on primates with 15% of blood meals studied presenting this host. These blood meals issued from primates are composed by 95% of humans (*Homo sapiens*) and 5% of western gorilla (*Gorilla gorilla*). In addition, the diet of tsetse flies varies following tsetse species. *Glossina palpalis palpalis* seems to be the most opportunistic species for the diet. On 216 (52%) identified blood meals, this tsetse species has fed on 100% identified hosts species: 23% *Homo sapiens*, 20% *Syncerus caffer* and 14% *Tragelaphus spekii*. With 91 (22%) identified blood meals, *G. fuscipes fuscipes* seems to have a diversified diet which consist primarily of mammals and reptiles. Concerning reptiles, *G. fuscipes fuscipes* consumed 75% of blood meals from Nil monitor (*Varanus niloticus*), 27% of blood meals from false-gharial (*Mecistops cataphractus*) and 25% of blood meals from python (*Python saba*). The human blood meals differ depending to tsetse species, but also according to sampled biotopes (table 2). These human blood meals are more important in areas frequented by man, especially in the villages (44%) and scientific research camps (29%). In natural environments, hematophagous flies show few interest for man with 13% of blood meals in primary forest and 15% in savannah.

These identified blood meals were collected equitably across in the three sampled parks. However, it seems there is a seasonal effect on the number of blood meals collected in the sampled parks. The hematophagous flies provided more blood sample during in the dry season compared to rainy season ( $Z=2.5$ ,  $P\text{-value} = 0.008$ ).

From the 417 blood meals collected and analyzed, *Trypanosoma* parasites were detected in 21 % of blood meals (table 3). 4 parasite species were identified with some co-infections: 27% *Trypanosoma vivax*, 20% *Trypanosoma congolense*, 19% *Trypanosoma brucei* and 4.5% *Trypanosoma simiae*. Infections with trypanosomes were found in thir-



teen host species corresponding to 88 blood meals. *T. vivax*, *T. congolense* and *T. brucei* are the predominant parasite species with an infection rate of 4.55, 3.79 and 3.6 respectively. The identified trypanosome species did not appear to be specific to the host. Indeed the majority of animal host species were infected by all trypanosomes species identified in the blood meals. On 100 unidentified blood meals, 15% was positive to *Trypanosoma spp.*

## Discussion

It is extremely difficult to observe and differentiate species of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys*, Tabanidae) in their environment and almost impossible to observe them to take their blood meals. However, the determination of the feeding habits of tsetse flies and their host preference is a crucial step in order to understand the dynamics of trypanosomes in their various wild and domestic hosts. To achieve this, the recent development of molecular techniques, can provide very accurate methods. However many studies show that hematophagous flies caught in traps were hungry and were searching for blood meal or were trying to complete their blood meal (Dagnogo et al. 1985; Simo et al. 2008). This observation could explain the low rate (45%) of engorged flies obtained from 2475 hematophagous flies caught.

The low rate (38%) of identified blood meals compared to the obtained meals could be explained by an advanced stage of digestion. We have collected many more exploitable blood meals during the dry season. The dry season seems to be one in which the hematophagous flies are most active (Bitome Essono et al. 2015). The seasonal effect could be due to the use of visual traps in which the attractiveness depends strongly on the sun. Similar results were obtained in Uganda where nearly 20% of captured and dissected flies in the dry season have a fresh blood meal against less than 8% in the rainy season (Katunguka-Rwakishay and Kabagambe 1996).

In our study, we have identified 21 different host species belonging mostly to mammals and reptiles. However, among 10 identified orders, the Artiodactyla represented 70% of identified blood meals with 43% derived from *Syncerus caffer*, 30% from *Tragelaphus spekii*, a antelope named commonly Sitatunga and 23% from *Cephalophus silvicultor*. We have 20% of blood meals from Primates including 95% from *Homo sapiens*. This last result can be explained by the strong proportion of Glossinidae caught with 61% of *G. palpalis palpalis*. Many studies have shown that the diet of *G. palpalis palpalis* was domi-

nated by human blood, Sitatunga blood and few domestic animals blood (Laveissière et al. 1985; Simo et al. 2008). Laveissière et al. (1985) have shown that 46% of blood meals were taken in humans and 46% in Sitatunga in West Africa. In an ancient focus of HAT, on 138 blood meals of tsetse analysed, 38.4% was from humans, 23.9% of domestic animals and 20.3% of Sitatunga (Simo et al. 2008). However no blood meal of *G. caliginosa* was taken on humans. This result is consistent with other studies that show that this species of flies takes its blood meal on wildlife only (Simo et al. 2008; Kohagne et al. 2010).

The abundance of buffalo in the parks of Lopé and Lékédi could explain the high rate of blood meals (30) from these animals. Sitatunga antelope is also abundant in the prospected parks, which could explain its relatively high rate of blood meals (21%). However the important number of blood meals from yellow-backed duiker suggests a deliberate diet choice of tsetse species on this host species, because it appears in 3rd place of the most abundant duikers after *Cephalophus dorsalis* and *C. monticola*. In addition wild animals seem to be the main hosts of tsetse flies with 86% of identified blood meals against only 14% of human blood meals. But in anthropised biotopes these human blood meals are very important, its represent 100% of identified blood meals in villages and 23% in research camps. This important rate of human blood meal can be explained by the human abundance in these habitats and the escape of wild animals that results. When there is no animal in biotopes tsetse flies bite humans (Gibson et al. 1978; Mehlitz 1986). The few blood meals from monkeys and great apes in these parks where live gorillas, chimpanzees and several monkey species, is difficult to explain. Either these flies show little food interests with respect to these animals or they have trouble to take their meal on them. Some animals spend a considerable energy to defend themselves against insect bites. For example, young cattle have a best defence against hematophagous flies than adult cattle (Torr & Hargrove 1998; Schofield & Torr 2002). In great apes and monkeys where animals live in community and delouse in keeping the group's hierarchical, it is possible that this mutual defence of individuals prevents hematophagous flies do their meals on those hosts.

## **Conclusion**

The diet of hematophagous flies revealed by this study is largely dominated by cattle and humans. Human seem to be among the favourite hosts of these hematophagous flies

when wildlife is absent. Among all hematophagous flies identified, *G. palpalis palpalis* is the most abundant and the most opportunistic species for the host choice. Although there is the presence of the vector and the parasite, the risk of transmission of HTA is relatively low in the prospected areas. The dry season seems to be one in which the hematophagous flies are more active and take more blood meals than the rainy season.

### **Acknowledgements**

This study was carried out with a financial support of: "Agence Universitaire de la Francophonie" (AUF), the "Service de Cooperation et d'Action Culturelle" (SCAC) of Embassy of France in Gabon, the "Conseil Régional de Bourgogne", the "BQR of Université de Bourgogne" and "Institut Français" of Libreville. Special thanks Celine ARNATHAU, Nancy MOUKODOUM and Lauriane YACKA for their assistance in molecular analysis. Flies sampling has been made by permission of the: "Centre National de Recherche Scientifique et Technologique" (CENAREST) and "Agence National des Parcs Nationaux" (ANPN).

### **References**

1. Abenga JN, Lawal IA. 2005. Implicating roles of animal reservoir hosts in the resurgence of Gambian trypanosomiasis (Sleeping Sickness). *African Journal of Biotechnology*, 4 (2): 134-137.
2. Acapovi G, Yao Y, N'goran E, Dia ML, Desquesnes M. 2001. Abundance relative des tabanidés dans la région des savanes de Côte d'Ivoire. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 54: 974-980.
3. Allsopp R, Baldry DAT, Rodrigues C. 1979. The influence of game animals on the distribution and feeding habits of *Glossina pallidipes* in the Lambwe Valley. *Bulletin of the World Health Organization*, 47: 795.
4. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403-410.
5. Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. 2010. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 38 (Database issue): D46-D51.
6. Bitome Essono PY, Dechaume-Moncharmont FX, Mavoungou J, Obiang Mba R, Duvallet G, Bretagnolle F. 2015. Distribution and abundance of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae) in two national parks of Gabon. *Parasite*, 22: 23.
7. Boakye A, Tang J, Truc P, Merriweather A, Unnasch TR. 1999. Identification of

bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Medical and Veterinary Entomology*, 13: 282-287.

8. Bouyer J, Balenghien T, Ravel S, Vial L, Sidibé I, Thévenon S, Solano P, De-Meeû T. 2009. Population sizes and dispersal pattern of tsetse flies: rolling on the river? *Molecular Ecology*, 18: 2787-2797.

9. Brun R, Blum J, Chappuis F, Burri C. 2010. Human African trypanosomiasis. *Lancet*, 375: 148-159.

10. Brunhes J, Cuisance D, Geoffroy B, Hervy JP. 1998. Les glossines ou mouches tsé-tsé. Logiciel d'identification et d'enseignement. Eds ORSTOM, Montpellier, France.

11. Burkett-Cadena ND, Graham SP, Hassan HK, Guyer C, Eubanks MD, et al. 2008. Blood feeding patterns of potential arbovirus vectors of the genus *Culex* targeting ectothermic hosts. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 79: 809-15.

12. Buxton PA. 1955. The natural history of tsetse flies. An account of the biology of the genus *Glossina* (Diptera). *Memory of London School of Hygiene & Tropical Medicine*. N° 10, H.K. Lewis, London.

13. Clauden PH, Adeyemi B, Bauer B, Breloer M, Salchow F, Staak C. 1998. Host-preferences of tsetse (Diptera: Glossinidae) based on blood meal identifications. *Medical and Veterinary Entomology*, 12: 169-180.

14. Dagnogo M, Lohuirignon K, Gouteux JP. 1985. Comportement alimentaire des populations péridomestiques de *Glossina palpalis* (Robineau-Desvoidy) et *Glossina tachinoides* Westwood du domaine guinéen de Côte d'Ivoire. *Cahier de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 23: 3-8.

15. Desquesnes M, Davila AM. 2002. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Veterinary Parasitology*, 109: 213-231.

16. Desquesnes M, Dia ML. 2004. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. *Veterinary Parasitology*, 119: 9-19.

17. Desquesnes M, McLaughlin G., Zoungrana A, Davila AMR. 2001. Detection and identification of *Trypanosoma* of African livestock through a single PCR based on internal transcribed spacer 1 of rDNA. *International Journal Parasitology*, 31: 610-614.

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

19. Foil L.D, Gorham J. 2000. Mechanical transmission of disease agents by arthropods. In: Eldridge, B.F, Edman, J.D. (Eds.), *Medical Entomology*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, pp. 461-514.

20. Gibson W, Mehlitz D, Codfrey DG. 1978. The identification of *Trypanosoma brucei gambiense* in Liberian pigs and dogs by isoenzymes and by resistance to human plasma. *Tropical Medicine and Parasitology*, 29: 335-345.
21. Gilles J, David JF, Duvallet G, De la Rocque S, Tillard E. 2007. Efficiency of traps for *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* on Reunion Island. *Medical and Veterinary Entomology*, 21: 65-9.
22. Gouteux JP. 1991. La raréfaction de tsétsé du groupe *fusca* en Afrique Centrale (Diptera, Glossinidae). *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 96 (5): 443-449.
23. Gouteux JP, D'Amico F, Cuisance D, Blanc F, Demba D, Staak C, Clausen PH, Kota-Guinza A, Le-Gall F. 1994. Les hôtes de *Glossina fuscipes fuscipes* Newstead, 1910 (Diptera: Glossinidae) dans 2 zones d'élevage de la République Centrafricaine. *Veterinary Research*, 25: 16-28.
24. Herder S, Simo G, Nkini S, Njiokou F. 2002. Identification of trypanosomes in wild animals from southern Cameroon using the polymerase chain reaction (PCR). *Parasite*, 9: 345-349.
25. Hoppenheit A, Bauer B, Steuber S, Terhalle W, Diall O, Zessin KH, Clausen PH. 2013. Multiple host feeding in *Glossina palpalis gambiensis* and *Glossina tachinoides* in southeast Mali. *Medical and Veterinary Entomology*, 27: 222-225.
26. Katunguka-Rwakishaya E, Kabagambe EK. 1996. Tsetse survey in Mukono District, south-east Uganda: Population structure, distribution and blood meal status. *Tropical Animal Health and Production*, 28: 151-157.
27. Kazadi JML. 2000. Interactions between vector and trypanosome in Determining the vectorial competence of tsetse flies [D. V. Sc. thesis]. University of Liège: Liège (Belgium).
28. Kohagne Tongué L, Gounoue Kamkuimo R, Mengue M'Eyi P, Kaba D, Louis FJ, Mimpfoundi R. 2011. Enquête entomologique dans le foyer historique de trypanosomose humaine africaine de Bendjé (Gabon). *Parasite*, 18: 303-309.
29. Kohagne Tongué L, Mengue M'Eyi P, Mimpfoundi R, Louis FJ. 2010. Régime alimentaire des glossines et diversité des espèces de trypanosomes dans un foyer actif de trypanosomose humaine africaine au Gabon. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 103: 264-271.
30. Kone N, N'goran EK, Sidibe I, Kombassere AW, Bouyer J. 2011. Spatio-temporal distribution of tsetse and other biting flies in the Mouhoun River basin, Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, 25, 156-168.
31. Laveissière C, Couret D, Staak C, Hervouët JP. 1985. *Glossina palpalis* et ses hôtes en secteur forestier de Côte d'Ivoire. Relation avec l'épidémiologie de la trypanosomose humaine. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 23 : 297-303.
32. Laveissiere C, Grebaut P. 1990. Recherches sur les pièges à glossines (Diptera :

Glossinidae). Mise au point d'un modèle économique : Le piège «Vavoua». *Tropical Medicine and Parasitology*, 41, 185-192.

33. Mehlitz D. 1986. Le réservoir animal de la maladie du sommeil à *Trypanosoma brucei gambiense*. *Études et Synthèses de 11EMVT*. 18. 156 pp

34. Mehlitz D, Zillmann U, Scott CM, Godfrey DG. 1982. Epidemiological studies on the animal reservoir of gambiense sleeping sickness. III. Characterization of Trypanozoon stocks by isoenzymes and sensitivity to human serum. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 33: 113-118.

35. Mihok S. 2002. The development of a multipurpose trap (the Nzi) for tsetse and other biting flies. *Bulletin of Entomological Research*, 92: 385-403.

36. Mihok S, Kang'Ethe EK, Kamau GK. 1995. Trials of Traps and Attractants for *Stomoxys spp.* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 32: 283-289.

37. Molyneux DH. 1973. Animal reservoir and gambian trypanosomiasis. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 53: 605-618.

38. Mukabana WR, Takken W, Knols BGJ. 2002. Analysis of arthropod blood meals using molecular genetic markers. *Trends in Parasitology*, 18, 11.

39. Muturi CN, Ouma JO, Malele II, Ngure RM et al. 2011. Tracking the feeding patterns of tsetse flies (*Glossina* genus) by analysis of bloodmeals using mitochondrial cytochromes genes. *PloS ONE*, 6: e17284.

40. Njiokou F, Laveissiere C, Simo G, Nkinin S, Grébaud P, Cuny G, Herder S. (2006). Wild fauna as a probable animal reservoir for *Trypanosoma brucei gambiense* in Cameroon. *Infection Genetics and Evolution*, 6: 147-153.

41. Njiokou F, Simo G, Nkinin SW, Laveissiere C, Herder S. 2004. Infection rate of *Trypanosoma brucei s.l.*, *T. vivax*, *T. congolense* "forest type", and *T. simiae* in small wild vertebrates in south Cameroon. *Acta Tropica*: 92: 139-146.

42. Pollock JN. 1982. Training manual for tsetse control personnel. Tsetse biology; systematics and distribution; techniques. FAO, 280p.

43. Reifenberg JM, Solano P, Duvallet G, Cuissance D, Simpore J, Cuny G. 1997. Molecular characterization of trypanosome isolates from naturally infected domestic animals in Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, 71: 251-262.

44. Rodríguez NF, Tejedor-Junco MT, González-Martín M, Gutierrez C. 2014. *Stomoxys calcitrans* as possible vector of *Trypanosoma evansi* among camels in an affected area of the Canary Islands, Spain. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47:510-512.

45. Sané B, Laveissière C, Meda HA. 2000. Diversité du régime alimentaire de *Glossina palpalis palpalis* en zone forestière de Côte d'Ivoire: relation avec la prévalence de la

trypanosomiase humaine africaine. *Tropical Medicine & International Health*, 5: 73-78.

46. Schofield S, Torr SJ. 2002. A comparison of the feeding behaviour of tsetse and stable flies. *Medical and Veterinary Entomology*, 16: 177-185.

47. Simarro PP, Diarra A, Ruiz-Postigo JA, Franco JR, Jannin JG. 2011. The Human African Trypanosomiasis Control and Surveillance Programme of the World Health Organization 2000-2009: The Way Forward. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e1007.

48. Simo G, Njiokou F, Mbida Mbida JA, Njitchouang GR, Herder S, Asonganyi T, Cuny G. 2008. Tsetse fly host preference from sleeping sickness foci in Cameroon: epidemiological implications. *Infection Genetics and Evolution*, 8: 34-9.

49. Simo G, Njitchouang GR, Njiokou F, Cuny G, Asonganyi T. 2012b. Genetic characterization of *Trypanosoma brucei* circulating in domestic animals of the Fontem sleeping sickness of Cameroon. *Microbes and Infection*, 14: 651-658.

50. Simo G, Silatsa B, Njiokou F, Lutumba P, Mansinsa P, Madinga J, Manzambi E, De-Deken R, Asonganyi T. 2012a. 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. *Parasites and Vectors*, 5: 201.

51. Solano P, Michel JF, Lefrançois T, La Rocque S, Sidibé I, Zoungrana A, et al. 1999. Polymerase chain reaction as diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Veterinary Parasitology*, 86: 95-103.

52. Steuber S, Abdel-Rady A, Clausen PH. 2005. PCR-RFLP analysis: a promising technique for host species identification of blood meals from tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *Parasitology Research*, 97: 247-254.

53. Torr SJ, Hargrove JW. 1998. Factors affecting the landing and feeding responses of the tsetse fly *Glossina pallidipes* to a stationary ox. *Medical and veterinary entomology*, 12: 196-207.

54. Torr SJ, Vale GA. 2015. Know your foe: lessons from the analysis of tsetse fly behaviour. *Trends in Parasitology*, 31 (3): 95-99.

55. Townzen JS, Brower AVZ, Judd DD. 2008. Identification of mosquito bloodmeals using mitochondrial cytochrome oxidase subunit I and cytochrome b gene sequences. *Medical and veterinary entomology*, 22: 386-393.

56. Waiswa C, Picozzi K, Katunguka-Rwakishaya E, Olaho-Mukani W, Musoke RA, Welburn SC. 2006. *Glossina fuscipes fuscipes* in the trypanosomiasis endemic areas of south eastern Uganda: Apparent density, trypanosome infection rates and host feeding preferences. *Acta Tropica*, 99: 23-29.

57. Weitz B. 1963. The feeding habits of *Glossina*. *Bulletin of the World Health Organization*, 28: 71 1-729.

## Tables and legends:

**Table 1:** Number of blood meals consumed by each tsetse species on the different hosts identified according to parks and climatic seasons. Gc=*Glossina caliginea*, Gfc=*G. fusca congolense*, Gff=*G. fuscipes fuscipes*, Gpn=*G. pallicera newsteadi*, Gpp=*G. palpalis palpalis*, Gs6=*G. tabaniformis*.

**Table 2:** Distribution of blood meals of human and animals depending tsetse species and habitats prospected.

**Table 3:** Number of infections of different host species to *Trypanosoma* species according to different parks and climatic seasons. Host1= *Cephalophus silvicultor*; Host2= *Gorilla gorilla*; Host3= *Ciconia sp*; Host4= *Homo sapiens*; Host5= *Syncerus caffer*; Host6= *Tragelaphus eurycerus*; Host7= *Tragelaphus spekii*; Host8= Unknown host; Host9= *Hippopotamus amphibius*; Host10= *Kobus ellipsiprymnus*; Host11= *Mecistops cataphractus*; Host12= *Kinixys erosa*; Host13= *Loxodonta cyclotis*; Host14= *Pelusios chapini*; Host15= *Python sabae*; Host16= *Tragelaphus scriptus*.

## Figures legends:

**Figure 1:** Illustration of the study zone: Moukalaba-Doudou national park, Lopé national park and Lékédi park.

**Figure 2:** Example of identification of *Trypanosoma* species on agarose gel. Samples A and B: 400pb (*T. simiae*); samples C, I and J: 480-500pb (*T. brucei*); sample E: 250pb (*T. vivax*); sample D: 460-480pb (*T. brucei*) and 260pb (*T. vivax*) co-infection (*T. brucei/T. vivax*); Sample F: a=700pb (*T. congolense*), b=480-500pb (*T. brucei*), c=400pb (*T. simiae*) co-infection (*T. congolense/T. brucei/T. simiae*).

**Figure 3:** Scatterplot of apparent density by trap and by day (ADT) of hematophagous flies according to park. In red, regression model line.

**Figure 4:** Boxplots of apparent density by trap and by day (ADT) of hematophagous flies according to climatic seasons.



**Table 1:**

				Number of blood meals consumed by Glossinidae species on the host species identified																													
				Moukalaba-Doudou										Lopé					Lékédi														
				Rainy season					Dry season					Rainy season					Dry season														
Taxonomics group	Orders	Family	Host species	Identified	Gc	Gfc	Gff	Gpn	Gpp	Gc	Gfc	Gff	Gpn	Gpp	Gc	Gfc	Gff	Gpn	Gpp	Gc	Gfc	Gff	Gpn	Gpp	Gc	Gfc	Gff	Gpn	Gpp				
Mammals	Artiodactyla	Bovidae	<i>Cephalophus silvicultor</i>	65		1	4	3	8	1	1	7	1	14		2	1		2	3	3	4	1	3		2	1	3					
			<i>kobus ellipsiprymnus</i>	4						3						1																	
	<i>Syncerus caffer</i>		123	3		5		7	1	1	3	2		9	2	1	10	5	7	1	2	8	1	6	2	1		1	6	10	8	8	13
	<i>Tragelaphus eurycerus</i>		5													2	1		1				1										
	<i>Tragelaphus spekii</i>		87								1			6	2	1	4	1	2	7	6	9	4	11		1		3	2	8	5	5	9
	<i>Hippopotamus amphibius</i>		2							1					1																		
	<i>Potamochoerus porcus</i>	3							1					2																			
	Carnivora				1																												
		Herpestidae		<i>Herpestinae sp</i>	1					1																							
	Primates	Hominidae		<i>Gorilla gorilla</i>	3					2					1																		
			<i>Homo sapiens</i>	60			1	1	13			2			22		3		1	2			1	4				4		1		5	
		Proboscidae			10										7				1		2												
	Reptiles	Crocodilia	Crocodylidae	<i>Crocodylus niloticus</i>	3										3																		
				<i>Mecistops cataphractus</i>	19			1		1						6															2	4	2
<i>Osteolaemus tetraspis</i>				1												1																	
				12																													
Squamata				8										2													2		2		2		
		Varanidae		<i>Varanus niloticus</i>	4										1				1														
Testudines		Testunidae		<i>Kinixys erosa</i>	1										1																		
			<i>Pelusios castaneus</i>	3								1	1		1																		
		Pelomedusidae		<i>Pelusios chapini</i>	1										1																		
			<i>Pelusios marani</i>	11						3					8																		
Birds	Ciconiformes			3																													
		Ciconiidae	<i>Ciconia sp</i>	3					1					2																			
<b>Total</b>	<b>8 orders</b>	<b>12 families</b>	<b>21 species</b>	<b>417</b>	3	1	11	4	41	2	2	16	4	89	6	7	18	7	16	11	11	22	6	25	2	4	1	13	8	20	20	15	32

**Table 2:**

Tsetse species	Biotopes	Total blood meals	Animals blood meals	Humans blood meals	Index Za	Distribution of blood meals according to parks and climatic seasons					
						Moukalaba-Doudou		Lopé		Lékédi	
						Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season
<i>G. caliginea</i>	Primary forest	13	13			1		2	7		3
	Resarch camp	3	3					1	2		
	Savannah	17	17			3	2	3	2	2	5
	Village										
<i>G. fusca congolense</i>	Primary forest	20	19	1	19		2	4	6		8
	Resarch camp	2		2					2		
	Savannah	19	19			1		3	3		12
	Village										
<i>G. fuscipes fuscipes</i>	Primary forest	28	28			1	7	6	9		5
	Resarch camp	15	15			1	1	4	4	1	4
	Savannah	44	42	2	21.5	7	7	7	9	3	11
	Village	3		3		2	1				
<i>G. pallicera newsteadi</i>	Primary forest	14	13	1	13	3	2	5			4
	Resarch camp	5	5				1	1	1		2
	Savannah	17	17				1	1	5	1	9
	Village	1		1				1			
<i>G. palpalis palpalis</i>	Primary forest	75	69	6	11.5	16	28	7	8	5	11
	Resarch camp	47	32	15	2.13	8	21	4	6	3	5
	Savannah	72	65	7	9.3	9	26	5	11	5	16
	Village	22		22		8	14				
<b>Total</b>		<b>417</b>	<b>358</b>	<b>60</b>	<b>5.97</b>	<b>60</b>	<b>113</b>	<b>54</b>	<b>75</b>	<b>20</b>	<b>95</b>

**Table3:**

		Number of trypanosomose detected in hosts (Ht) in relation to parks and climatic seasons																															
		Moukalaba-Doudou												Lopé						Lékédi													
		Rainy season						Dry season						Rainy season			Dry season			Rainy season			Dry season										
Trypanosomose species	Detected	Ht1	Ht4	Ht5	Ht9	Ht11	Ht13	Ht1	Ht4	Ht5	Ht7	Ht8	Ht10	Ht12	Ht14	Ht1	Ht4	Ht5	Ht6	Ht7	Ht1	Ht4	Ht5	Ht7	Ht1	Ht4	Ht8	Ht15	Ht16	Ht5	Ht13	Ht15	
<i>T. brucei</i>	17	1	2	1	1	1		3			1					1					2	1		1	2								
<i>T. brucei/T. congolense</i>	10		1					1	1	1											1	1		1	1	1		1					
<i>T. brucei/T. simiae</i>	2											2																					
<i>T. brucei/T. vivax</i>	2												1										1										
<i>T. congolense</i>	18						2				1					4	1	1			1	2			1			4		1			
<i>T. congolense/T. brucei/T. simiae</i>	1																					1											
<i>T. simiae</i>	4			1			1									1											1						
<i>T. simiae/T. congolense</i>	2																							1		1							
<i>T. simiae/T. vivax/T. congolense</i>	1																									1							
<i>T. vivax</i>	24	2	2		1	1		3	1	1					1	1				2	1	3					1		1	2	1		
<i>T. vivax/T. congolense</i>	3											2											1										
<i>T. vivax/T. simiae</i>	4											1	1		1		1																
<b>Total</b>	<b>88</b>	3	3	4	1	2	1	4	4	3	2	8	1	1	1	1	1	7	1	1	2	3	3	9	2	2	7	1	1	5	2	2	

Figure 1:

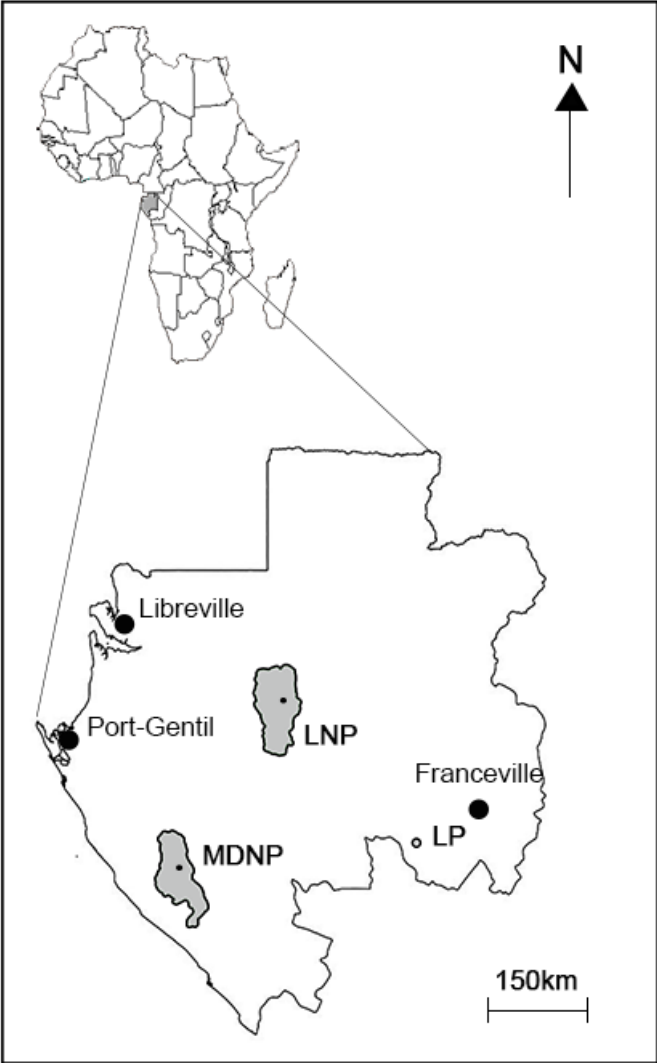
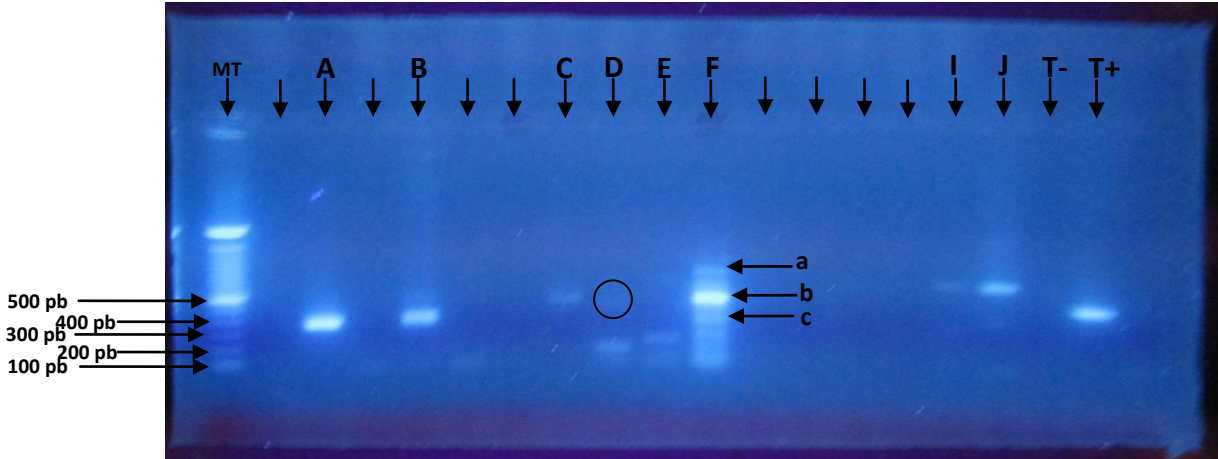
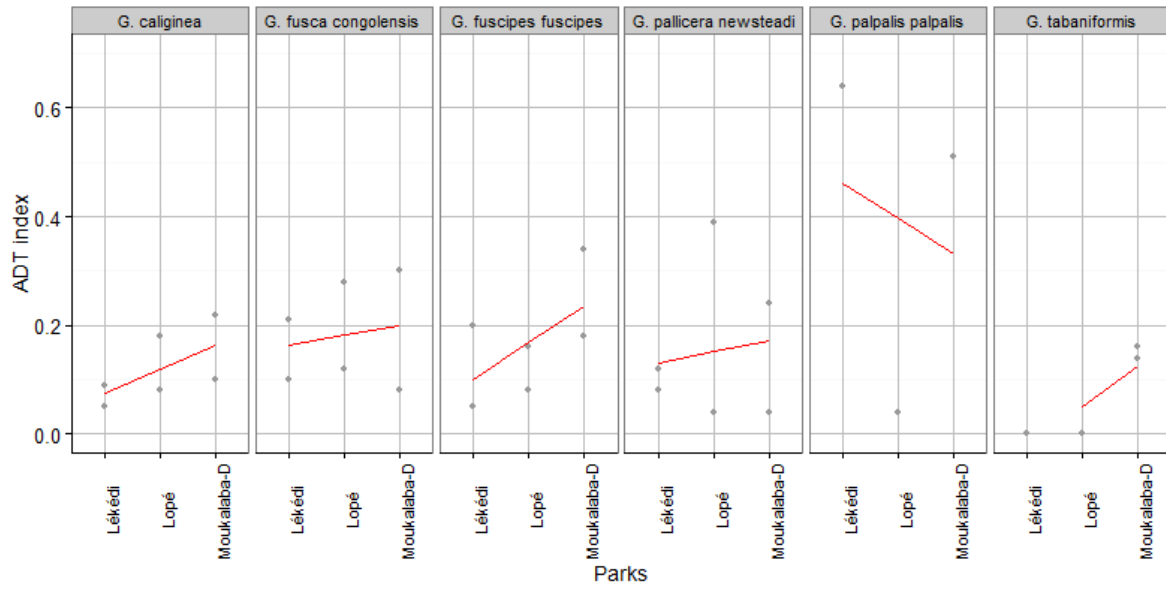


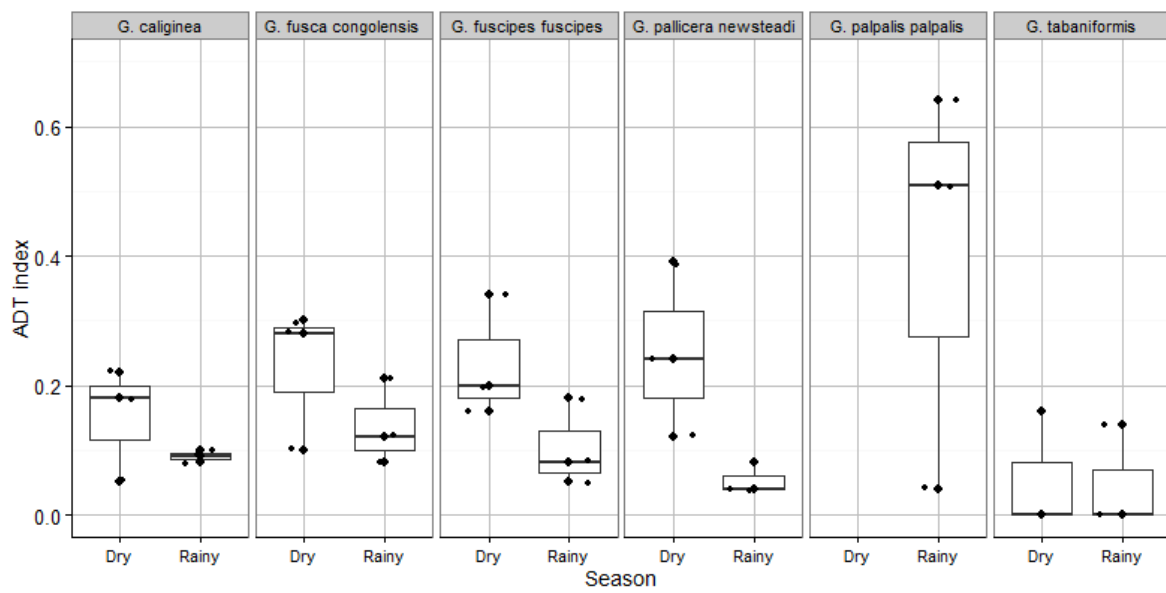
Figure 2:



**Figure 3:**



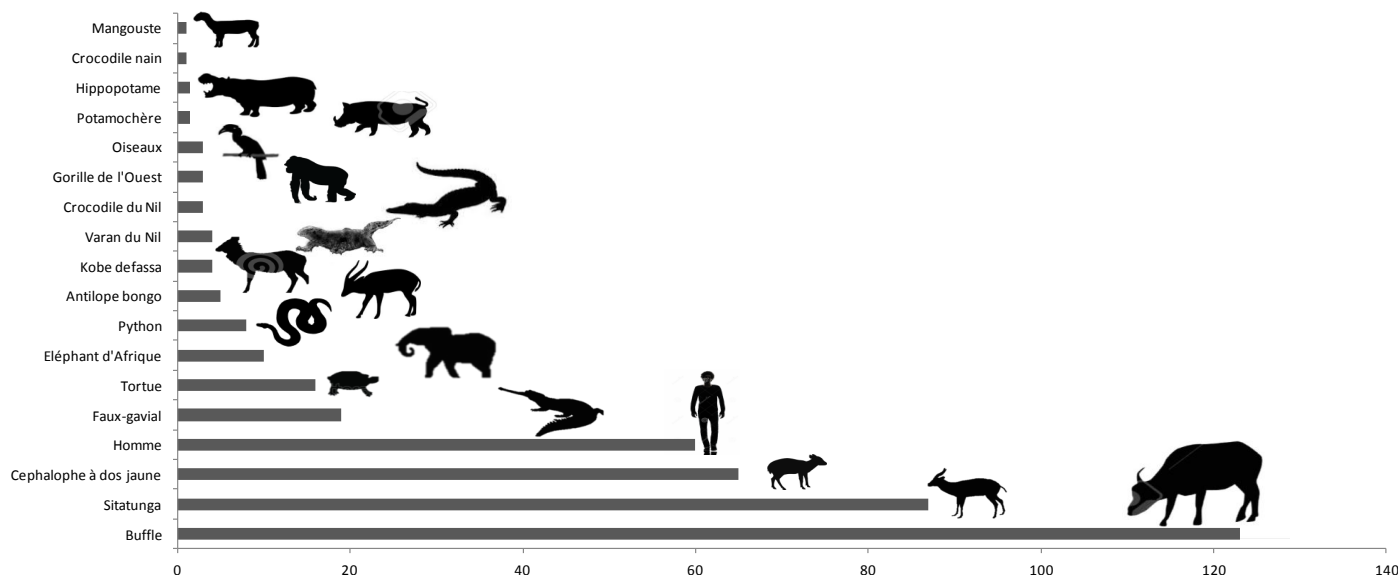
**Figure 4:**



### V.3] Synthèse des principaux résultats du chapitre II

Dans cette étude, nous étudions le comportement alimentaire de six espèces de glossines dans les parcs de Moukalaba-Doudou, Lopé et Lékédi au Gabon. Les captures de mouches ont été effectuées en saison sèche et en saison des pluies afin de comparer l'activité nutritionnelle de ces mouches hématophages entre les deux saisons climatiques.

Au total 2475 glossines ont été collectées, appartenant à six espèces différentes dont 61% de *Glossina palpalis palpalis*, 13% de *G. fuscipes fuscipes*, 10% de *G. fusca congolense*, 7% de *G. pallicera newsteadi*, 6% de *G. caliginea* et 3% de *G. tabaniformis*. Dans l'ensemble, les mouches ont été plus collectées en saison sèche par rapport à la saison des pluies ( $Z=2.34$ ,  $P\text{-value}=0.02$ ). Seules les cinq premières espèces de mouches identifiées ont été retrouvées gorgées d'un repas sanguin, et après identification nous confirmons le régime alimentaire très diversifié des glossines. Ces mouches hématophages se sont nourries sur une gamme diversifiée d'hôtes vertébrés, comprenant des mammifères terrestres et aquatiques, des reptiles et des oiseaux. Dans l'ensemble des repas sanguins collectés, 21 espèces de vertébrés ont été identifiées, appartenant à 12 familles et 8 ordres taxonomiques (figure 20).



**Figure 20:** La diversité d'hôtes vertébrés retrouvés dans les repas sanguins de glossines dans les parcs de Moukalaba-Doudou, de Lopé et de la Lékédi au Gabon.

Visiblement, certains groupes taxonomiques semblent être beaucoup plus appréciés que d'autres. C'est le cas des mammifères qui représentent 87% des hôtes identifiés, alors que les reptiles en représentent 12% et les oiseaux 1%. Avec respectivement 68% et 14% des repas sanguins identifiés dans cette étude, les bovidés et les primates humains sont les principaux hôtes des glossines chez les mammifères. Les suidés ne représentent que 3 repas sanguins parmi les 417 identifiés. Chez les reptiles, les crocodiles et les tortues semblent être les principaux hôtes avec respectivement 6% et 4% des repas sanguins identifiés. Les habitudes alimentaires des différentes espèces de glossines sont similaires à l'exception de *Glossina caliginea* qui semble ne pas se nourrir sur l'homme et *G. palpalis palpalis* qui prend la majeure partie de ses repas sur ce dernier. En effet, *Glossina caliginea* a été retrouvée gorgée à 47% de repas de sang du buffles (*Syncerus caffer*), à 35% de l'antilope Sitatunga (*Tragelaphus spekii*) et aucun repas sanguin d'origine humaine. *G. fusca congolense* et *G. pallicera newsteadi* se sont principalement nourries sur l'antilope Sitatunga (*Tragelaphus spekii*), les buffles (*Syncerus caffer*) et ont pris quelques repas sanguins humains. *G. fuscipes fuscipes* s'est nourrie à 39% de buffles (*Syncerus caffer*), à 22% de Sitatunga (*Tragelaphus spekii*), à 20% de céphalophes à dos jaune (*Cephalophus silvicultor*) et de reptiles où elle est responsable de 75% des repas sanguins de varans (*Varanus niloticus*). *G. palpalis palpalis*, qui est responsable de 52% des repas sanguins identifiés, s'est nourrie à 23% de l'homme (*Homo sapiens*), à 20% de buffles (*Syncerus caffer*), à 15% de Sitatunga (*Tragelaphus spekii*) et 13% de céphalophes à dos jaune (*Cephalophus silvicultor*). L'abondance des buffles dans les parcs de la Lékédi et de la Lopé pourrait expliquer le fort taux de repas sanguins (30%) pris sur ces animaux. De même, l'antilope Sitatunga est assez présente dans les différents parcs prospectés, ce qui pourrait expliquer son taux de repas sanguins relativement élevé (21%). En revanche, le taux de repas sanguins important (15%) du céphalophe à dos jaune semble montrer un choix délibéré de ces espèces de glossines sur cette espèce d'hôte qui ne figure qu'à la 3<sup>e</sup> place des céphalophes les plus abondants après *Cephalophus dorsalis* et *C. monticola*, selon un rapport d'inventaire effectué en 2010 par le projet PROCOBHA piloté par l'Institut de Recherche en Écologie Tropicale (IRET-CENAREST). En outre, lorsque nous regardons de très près l'ensemble des repas sanguins humains, nous remarquons qu'ils ont été prélevés à 44% dans les villages et à 29% dans les camps de recherche scientifiques localisés dans les parcs. Bien qu'ayant utilisé une méthode d'analyse moléculaire différente, ces résultats corroborent ceux déjà

rapportés par d'autres auteurs sur le régime alimentaire des glossines (Weitz, 1963; Clausen et al., 1998; Spath, 2000). Nombreuses études montrent que les bovidés et suidés sauvages ou domestiques constituent les principaux hôtes nourriciers des glossines (Weitz, 1963; Dagnogo et al., 1996; Clausen et al., 1998). Et c'est en absence de ces animaux dans le milieu que les glossines se rabattent vers les humains et leur transmettent les agents pathogènes de la maladie du sommeil (Gibson et al., 1978; Mehltz, 1986; Dagnogo et al., 1996). De même l'attraction pour l'homme de *G. palpalis palpalis* a déjà été rapportée par plusieurs études effectuées dans deux anciens foyers de THA du sud Cameroun (Njiokou et al., 2004; 2006; Simo et al., 2008; Farikou et al., 2010). Ces auteurs trouvent que les principaux hôtes de *Glossina palpalis palpalis* sont les humains, les animaux domestiques et quelques bovidés sauvages comme l'antilope Sitatunga (*Tragelaphus spekii*). Avant eux, Laveissière et al., (1985) avaient déjà trouvé que cette espèce de glossine se nourrissait à 46% de l'homme et à 46% de l'antilope Sitatunga. Dans l'ensemble *G. palpalis palpalis* est une espèce opportuniste capable de se nourrir sur tout hôte rencontré, des reptiles jusqu'aux oiseaux (Weitz, 1963; Clausen et al., 1998; Spath, 2000; Kohagne et al., 2010). D'autre part, le goût prononcé de *Glossina fuscipes fuscipes* pour les reptiles en particulier des varans et des crocodiles a déjà été rapporté par d'autres études (Gouteux et al., 1994; Waiswa et al., 2006). Soulignons tout de même la faible présence de *G. tabaniformis* dans les captures et surtout l'absence totale de repas sanguins récoltés chez cette espèce du groupe *fusca* (sous-genre *Austenina*). Ce groupe de glossines essentiellement forestier est connu pour être peu représenté en Afrique Centrale (Gouteux, 1991), et pour avoir des espèces moins flexibles sur le plan alimentaire (Gouteux et al., 1994). A défaut de leurs hôtes préférés dans un milieu, certaines espèces de ce groupe de glossines peinent à se nourrir et finissent par disparaître. C'est ainsi que leur disparition au sud de la République Centrafricaine a été associé au déclin de certaines espèces animales dans la région (Gouteux et al., 1994). Sur l'ensemble des repas sanguins identifiés, 173 proviennent du parc de Moukalaba-Doudou dont 113 collectés en saison sèche et seulement 60 collectés en saison de pluie. Au parc de la Lopé, 129 repas sanguins ont été identifiés dont 75 collectés en saison sèche et 54 collecté en saison des pluies. Et au parc de la Lékédi, 115 repas sanguins ont été identifiés dont 95 collectés en saison sèche et 20 en saison des pluies. Nous observons donc un effet saison sur le taux de repas sanguins identifiés ( $Z=2.5$ ,  $P\text{-value}=0.008$ ).



Sur les 417 repas sanguins récoltés et analysés, 21% étaient infectés aux trypanosomes. Au total, quatre espèces de trypanosomes différentes ont été identifiées à des proportions différentes: 27% *Trypanosoma vivax*, 20% *Trypanosoma congolense*, 19% *Trypanosoma brucei* and 4.5% *Trypanosoma simiae*. Avec les taux d'infections respectives de 4.55, 3.79 et 3.6, *T. vivax*, *T. congolense* et *T. brucei* sont les espèces les plus importantes identifiées dans cette étude. Sachant que c'est la sous-espèce *T. brucei gambiense* qui est responsable de la maladie du sommeil en Afrique Centrale, le taux relativement important de *T. brucei* peut intriguer sur le risque de transmission de THA dans les milieux prospectés. En revanche, ces infections *T. brucei*, peuvent également se révéler des infections à la sous-espèce *T. brucei brucei* qui infecte exclusivement les animaux. En général, l'indice zoophilie (Za) est négativement corrélé au taux d'infection à la THA (Sane et al., 2000; Kohagne et al., 2010). Les taux élevés de l'indice zoophilie dans les biotopes où nous avons simultanément eu des repas sanguins d'humains et d'animaux, peuvent laisser penser que le risque de transmission de la THA est relativement faible dans les parcs prospectés.

En somme, nous confirmons la diversité d'hôtes nourriciers des glossines, comprenant les mammifères, les reptiles et les oiseaux. En utilisant une nouvelle approche moléculaire, nous observons les mêmes goûts alimentaires des glossines pour les bovidae et les humains. *Glossina palpalis palpalis* reste l'espèce de glossines la plus opportuniste sur le plan alimentaire, elle s'est nourrie sur l'ensemble des espèces d'hôtes identifiés. En revanche, *G. fuscipes fuscipes* a pris un nombre considérable de repas sanguins sur les artiodactyles, mais semble tout de même avoir un fort goût pour les varans. Les humains, qui représentent 14% de l'ensemble de repas sanguins identifiés, occupent une place non négligeable dans le régime alimentaire des glossines. Cependant, ces repas sanguins d'origine humaine ne sont importants que dans les endroits où il n'y a pas assez de faunes, notamment dans les villages et autours des camps de recherches. Le nombre de repas sanguins est plus important en saison sèche, cela impliquerait que ces mouches hématophages se nourrissent beaucoup plus en saison sèche qu'en saison des pluies. L'opportunisme alimentaire de certaines espèces de glossines et la diversité d'hôtes identifiés peuvent laisser craindre un risque de transmission de THA dans ces parcs prospectés. Mais les taux d'infections relativement faibles et l'indice zoophilie laissent plutôt penser que les risques de transmission de THA sont assez faibles dans les parcs prospectés.

**Utilisation des mouches hématophages comme moyen d'échantillonnage non-invasif des agents infectieux dans les populations animales de quatre parcs nationaux du Gabon.**

## VI.1] Introduction générale du chapitre III

---

Ce chapitre est rédigé en anglais sous forme d'article scientifique. Il fait l'objet d'une publication en préparation.

Les apparitions soudaines des maladies comme le virus Nipah en 1998 (Malaisie), le virus du Nil occidental en 1999 (USA), le syndrome respiratoire aiguë sévère en 2002 (Chine), la grippe aviaire hautement pathogène en 2003 (Thaïlande), et les réapparitions fréquentes d'épidémies d'Ebola, le maintien de la THA ou du paludisme (Afrique subsaharienne), pourraient s'expliquer par l'existence de réservoirs de ces agents pathogènes (Herder et al., 2002; AbuBakar et al., 2004; Njiokou et al., 2006; Leroy et al., 2005; Jones et al., 2008). La vitesse à laquelle se propagent maintenant ces maladies depuis le développement des transports rapides et les immenses coûts qu'elles engendrent à l'économie mondiale accentuent d'avantage la nécessité de comprendre leur écologie. La compréhension de ces recrudescences, émergences ou réémergences spontanées de maladies nécessite le développement de nouveaux outils de détection et de surveillance des zoonoses.

Maintenant qu'il est bien connu que 60% des maladies émergentes actuelles sont des zoonoses dont 75% proviennent de la faune sauvage et que près de  $\frac{3}{4}$  d'entre elles sont susceptibles d'être transmises par un vecteur, il nous paraît intéressant de regarder s'il est possible de détecter les agents infectieux dans les repas sanguins de mouches hématophages capturés dans la nature. 20 à 40% de mouches hématophages capturées possèdent souvent un repas sanguin (Gouteux et al., 1984; Mavoungou et al., 2008b; Simo et al., 2012a). Ces mouches hématophages abondent dans les parcs nationaux du Gabon, où plusieurs facteurs écologiques semblent être réunis pour leurs proliférations (Mavoungou et al., 2008a; Zinga et al., 2013; Bitome Essono et al., 2015). Leur forte mobilité et leur opportunisme alimentaire (Weitz, 1963; Laveissière et al., 1985; Clausen et al., 1998; Waiswa et al., 2006; Mavoungou et al., 2008b; Farikou et al., 2010), font d'elles de bons moyens d'obtenir des repas sanguins provenant de différents groupes de vertébrés afin de cribler le maximum de réservoirs potentiels. A partir des repas sanguins récoltés, nous avons recherché des pathogènes à ADN (plasmodiums et trypanosomes), et aussi quelques arbovirus à ARN (pan-alpha, pan-flavi et pan-phlébo).

**SCREENING WILDLIFE PATHOGEN BIODIVERSITY USING HEMATOPHAGOUS FLIES AS “FLYING SYRINGES”**

BITOME ESSONO P.Y.<sup>1,2,3</sup>, OLLOMO B.<sup>2\*</sup>, TOTY C.<sup>4</sup>, ARNATHAU C.<sup>4</sup>, GRÉBAUT P.<sup>5</sup>, NJIOKOU F.<sup>6</sup>, BRETAGNOLLE F.<sup>1\*</sup>, PRUGNOLLE F.<sup>2,4\*</sup> & PAUPY C.<sup>2,4\*</sup>

<sup>1</sup>Biogéosciences Unit, UMR-CNRS 6282, Ecologie-Evolutive, 6 Boulevard Gabriel 21000 Dijon-France

<sup>2</sup>Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), BP 769 Franceville-Gabon

<sup>3</sup>Institut de Recherche en Écologie Tropicale (IRET-CENAREST), BP: 13354 Libreville-Gabon

<sup>4</sup>MIVEGEC Unit, UMR 224-5290 CNRS-IRD-UM, Centre IRD de Montpellier, BP 64501, 34394 Montpellier-France

<sup>5</sup>INTERTRYP Unit, UMR 177 IRD-CIRAD, Campus International de Baillarguet, TA A17/G, 34398 Montpellier Cedex 5-France

<sup>6</sup>Département de Biologie Animale et Physiologie, Laboratoire de Parasitologie et Ecologie, Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1, BP 812, Yaoundé-Cameroun

\*Co-managed the project

**Key words:** Hematophagous flies, blood meals, non-invasive sampling, wildlife, conservation, pathogen screening, Gabon.

**Corresponding author:** Paul Yannick BITOME ESSONO

E-mail: [bitomessono@yahoo.fr](mailto:bitomessono@yahoo.fr)

## SCREENING WILDLIFE PATHOGEN BIODIVERSITY USING HEMATOPHAGOUS FLIES AS “FLYING SYRINGES”

BITOME ESSONO P.Y.<sup>1,2,3</sup>, OLLOMO B.<sup>2\*</sup>, TOTY C.<sup>4</sup>, ARNATHAU C.<sup>4</sup>, GRÉBAUT P.<sup>5</sup>, NJIOKOU F.<sup>6</sup>,  
BRETAGNOLLE F.<sup>1\*</sup>, PRUGNOLLE F.<sup>2,4\*</sup> & PAUPY C.<sup>2,4\*</sup>

### **Abstract:**

The increasing number of emerging diseases, their virulence and their speed of spread since the development of transports requires the development of new methods for detection and monitoring of infectious agents in wildlife. We now know that 60% of emergent diseases in human are of zoonotic origin, which 75% are transmitted by vectors. We tried to use blood meals from hematophagous flies to identify the infectious agents circulating in their vertebrate hosts. 4099 hematophagous flies were caught (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae), 1230 (30%) blood meals were collected and 428 (35%) blood meals were identified belonging to 12 families and 8 taxonomic orders. Overall, 10% of blood meals were infected to different plasmodium species and 21% were infected to different trypanosome species with sometimes bi or multiple infections. Tsetse seems to be the ideal taxonomic group of hematophagous flies for this type of study. Among the tsetse flies, 54% of blood meals were collected in *Glossina palpalis palpalis* with 51 % of identified blood meals and 18% of blood meals in *G. fuscipes fuscipes* with 22% of identified blood meals. The ubiquity of these species in forest habitats and their diet opportunism makes of its species best suited for non invasive sampling of wildlife.

## Introduction

Emergence and re-emergence of human infectious diseases are increasing in recent years. Of 1415 pathogens known to infect human (Taylor et al. 2001; Woolhouse & Gaunt 2007), around one-fourth appeared between 1940 and 2004 (Daszak et al. 2004; Jones et al. 2008). Emergent virus such as Ebola (Pattyn et al. 1977), Nipah (Chua et al. 2000), West-Nile (Apperson et al. 2002), SRAS (Li et al. 2005) and avian flu (Kuiken et al. 2005) are among the best known. Nevertheless some parasite or bacteria. The appearance of new pathogens has gradually increased since 1980. Seven of them appear annually and this number should reach 15-20 by 2020 (Woolhouse et al. 2013).

Sixty per cent of diseases emerging in human are zoonotic (AbuBakar et al. 2004; Daszak et al. 2004; Wolfe et al. 2005; Morand et al. 2006). Wildlife plays a key role in their emergence by providing a zoonotic pool from which previously unknown pathogens may emerge (Taylor et al. 2001; Daszak et al. 2004; Woolhouse & Gaunt 2007; Jones et al. 2008; Daszak et al. 2010).

As a consequence, searches of new zoonotic pathogens from wild fauna have become part of the strategy to counter emerging disease threats to humans. Although the search of reservoirs has been successful for several emerging diseases, this has not been the case for number pathogens. The case of the Ebola virus is quite exemplary in that sense. Thus although more than 40 000 animals were screened, the exact nature of the reservoir(s) remains a known.

The screening of wild animals for pathogen circulation is mainly based on two methods: the use of bushmeat or the direct trapping of animals for organ and tissue collection. These methods have revealed pertinent in many cases but present some weaknesses. In the former case, bushmeat represents only a fraction of the fauna and in the second, certain species may be difficult / dangerous to trap. In addition, for certain species that are threatened and protected, such manipulation may reveal dangerous for the animal. There is therefore a need for the development of new methods, preferentially non invasive, to screen wildlife for pathogens diversity.

In that sense, the use of hematophagous flies as flying needles may constitute such new approach for blood-borne pathogens. Nucleic acids (DNA or RNA) of vertebrate hosts or pathogens in arthropods bloodmeals remain preserved and detectable several days

(Bongiorno et al. 2003; Richards et al. 2006; Simo et al. 2008; Kent 2009; Muturi et al. 2011; Schnell et al. 2012). For example, HIV was detected 8 days after blood ingestion by bugs and 10 to 14 days by ticks (Humphrey-Smith & Chastel 1988; Webb et al. 1989; Humphrey-Smith et al. 1993). Recently, H5N1 flu virus was found viable in mosquitoes (Barbazan et al. 2008), although the transmission of this virus by mosquitoes are unproven (Sawabe et al. 2006). Hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae) are large flies measuring between 3 to 25 millimeters and both sexes' feeds on vertebrate's blood except male tabanids (Mullens 2002). Some studies performed on Glossinidae and *Stomoxys* showed that 20-40% of flies are engorged with blood (Gouteux et al. 1984; Mavoungou et al. 2008a; Simo et al. 2012a). These flies abound in Gabon national parks where ecological factors seem to be present for their spreading (Mavoungou et al. 2008b; Zinga et al. 2013; Bitome Essono et al. 2015). In addition to presenting favourable microhabitats and a shady vegetation essential for larvae development (Ford 1970; Laveissière & Hervouët 1981), these parks hosts fauna hugely rich including mammals, reptiles and birds. The omnipresence of hematophagous flies in forests and their opportunistic blood-feeding behavior (Weitz 1963; Clausen et al. 1998; Spath 2000; Waiswa et al. 2006; Mavoungou et al. 2008a; Farikou et al. 2010) leave us opportunities to obtain blood meals from different vertebrate hosts and among them from potential reservoirs of infectious agents.

Also, until recently many researchers have used bloodmeals issued from blood-sucking arthropods to study pathogens and host preferences using serologic methods as parasitologic test, hemagglutination, Elisa test (Clausen et al. 1998; Mukabana et al. 2002; Kohagne et al. 2010; Muturi et al. 2011; Simo et al. 2012b). More recently, some molecular tools based on the PCR amplification of mtDNA markers were developed (Kocher et al. 1989; Muturi et al. 2011, Njiokou et al. 2004; 2006; Farikou et al. 2010; Njitchouang et al. 2010). Here report a method that includes the sequencing of amplified fragments and their comparison using reference sequences database such as Genbank to search homologies with published vertebrate and pathogen sequences. provides allowing the identification of sequence at 99% Hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanids) were caught in 4 national parks in Gabon during dry and rainy seasons to optimise the capture of different species (Bitome Essono et al. 2015). These flies were identified, dissected to extract blood meals. From these blood meals,

vertebrate hosts were identified and few pathogens present on the study area like trypanosome and Plasmodium.

## **Materials and Methods**

### ***Study sites***

The fly sampling was implemented inside four wildlife reserves in Gabon (figure 1): Moukalaba-Doudou National Park "MDNP" (S: 2° 26' 08"/E: 10° 25' 18"), Lopé National Park "LNP" (S: 0° 31' 31"/E: 11° 32' 34"), Lékédi Park "LP" (S: 1° 45' 32"/E: 13° 03' 16") and Ivindo National Park "INP" (N: 0° 30' 82"/E: 12° 48' 20"). Both MDNP and LNP are dominated by an alternance of mature forest and mosaic forest-savannah. The INP is largely dominated by mature forest with some open biotopes characterizing the secondary forest. The LP is a private park dominated by large savannah and some secondary forest.

### ***Sampling strategy***

Hematophagous flies were sampled during both the rainy and dry seasons between 2012 and 2014. In INP and MDNP, the sampling was done during two years following a gradient of human activity from the primary forest to villages. In the other parks, flies were sampled during a single year. Flies were collected by using Vavoua and Nzi traps (Laveissiere and Grébaud 1990; Acapovi et al. 2001; Mihok 2002; Gilles et al. 2007). The Vavoua trap, initially developed for the capture of Glossinidae was also successfully used for the capture of *Stomoxys* on "the Réunion Island" (Laveissiere & Grebaut 1990; Gilles et al. 2007). The Nzi trap was more adapted to the capture of *Glossina pallidipes* and Tabanids in Africa (Acapovi et al. 2001; Mihok 2002). In each park, we used a total of 24 traps (12 Vavoua and 12 Nzi) during seven consecutive days. The sampling was done once every season in each park. Each trap was activated from 7:00 AM to 5:00 PM.

### ***Identification and dissection of hematophagous flies***

The identification of tsetse species collected was made on freshly collected specimen by using a stereo microscope and taxonomic procedure. Species flies (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae) was determined following the determination keys of Pollock (1982),



Brunhes et al. (1998), Zumpt (1973), Garros et al. (2004) and Oldroyd (1952; 1954; 1957; 1973) according to their morphological characteristics such as size, color, wing venation structure and proboscis.

After species identification, engorged flies were dissected individually in a drop of Dulbecco's phosphate buffered saline solution (DPBS 1X) to isolate blood meals from midgut. Each hematophagous fly was dissected onto a slide using one forceps and a scalpel. Between two flies the dissection instruments were changed to avoid contaminations. The blood was transferred and conserved in a 1.5 ml microtube containing 50 µl of RNAlater (Qiagen: Store at RT Tissue Collection) solution to stabilize nucleic acids. The RNAlater is a stabilizing solution of the nucleic acids (DNA and RNA) present in human and animal tissues. We used this solution to preserve nucleic acids of vertebrate host and pathogens (plasmodiums and other) contained in our blood meals. Samples were kept at ambient temperature until extraction of nucleic acids (DNA).

### ***DNA extraction***

Samples were centrifuged 10 min at 15000 rpm at 4°C to remove RNA later. The pellet was used to extract DNA using DNeasy blood and tissue kit Qiagen (QIAamp DNA Blood Mini Kit) according to the manufacturer's instructions. Extracted DNA were eluted in 100 µl of buffer AE and stored at -20°C.

### ***DNA amplification for hosts' identification***

The determination of vertebrate hosts was done using total extract DNA to amplify of a 450 bp portion of the cytochrome b (Cytb) gene using previously published primers (Boakye et al. 1999). PCR amplifications were performed using a GeneAmp 9700 thermal cycler (Applied Biosystems, USA) with 50 µL reaction mixes containing 4 µL of template DNA, 10 mM of Tris-HCl (pH=9), 50 mM of KCl, 3 mM of MgCl<sub>2</sub>, 20 pmol of each primer (5'CCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA3' and 5'CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA3'), 200 mM of dNTP and 1U of Taq polymerase. The thermal cycling conditions consisted of 3.5 min at 95°C, 40 cycles of 30s at 95°C, 50s at 58°C, and 40s at 72°C, followed by 5 min at 72°C. For samples for which the Cytb amplification failed we amplified a 330 bp and/or a 660 bp fragments of the Cytochrome Oxydase subunit I gene using primers and protocols previously described (Townzen et al. 2008). All PCR-amplified products (10 µl) were run on 1.5% agarose gels in TBE

buffer, and positive samples were sent to Beckman Coulter Genomics (France) for sequencing in both strands after purification. Consensus sequences were compared with existent sequences using the NCBI nucleotide Blast search (Benson et al. 2010) to determine hosts species (Altschul et al. 1990). Each identification was confirmed from 98% similarity to the reference sequence.

### ***DNA amplification for Plasmodium detection and identification***

These are samples where we have identified hosts that were tested in priority. Also, 100 host unknowns' random samples were tested in malaria.

The detection of *Plasmodium* parasites was done using the amplification of a portion of the Cytochrome b (Cytb) gene using a nested PCR according to protocols previously published (Prugnolle et al. 2010). As previously described in host identification section, the PCR products were checked on 1.5% agarose gels before being sent to EUROFIN for sequencing in both strands after purification. The multiple alignments of *Plasmodium* sequences were conducted using ClustalW in Bioedit version 7.1 (Thompson et al. 1994, Hall 1999). A phylogenetic tree with *Plasmodium* sequences was built using phylogeny.fr (Dereeper et al. 2008) compared to reference sequences of *Plasmodium* in Genbank.

### ***Data analysis***

We calculated the apparent density by trap (ADT) index in order to estimate the relative abundance of each vector species in the different sampled parks according to climatic seasons. The ADT index was calculated as:  $ADT = \text{number of captured flies} \times (\text{number of traps} \times \text{number of days})^{-1}$ .

The effect of parks and climatic seasons on number of flies captured was assessed using a generalized linear model with mixed-effects. To assess the influence of parks and seasons the ADT index, a full linear model mixed effect with Gaussian distribution was defined including parks and seasons as co-variables. To assess the influence of parks and seasons on the number of blood meals identified, a full linear model mixed effect with binomial distribution was defined including parks and seasons as co-variables. In both linear models the parks are considered as random effect. All analysis were performing with R statistical software version 3.2.2 with glmmADMB package.

## Results

### *Hosts identification from blood meals*

A total of 4099 hematophagous flies were caught belonging to 14 species (Table 1). Among them we identified six Glossinidae species (*Glossina caliginea*, *G. fusca congolensis*, *G. fuscipes fuscipes*, *G. pallicera newsteadi*, *G. palpalis palpalis*, *G. tabaniformis*), six Stomoxys species (*Stomoxys calcitrans*, *S. inornatus*, *S. niger bilineatus*, *S. niger niger*, *S. omega omega*, *S. transvittatus*), six Tabanidae species (*Ancala sp.*, *Atylotus sp.*, *Chrysops sp.*, *Haematopota sp.*, *Tabanus par*, *T. taeniola*). Among sampled flies, 1230 were engorged with blood. 99% of bloodmeals were issued from Glossinidae and 98% were identified for this species. 54% of blood meals were collected in *Glossina palpalis palpalis* with 51% of identified blood meals, 18% of blood meals in *G. fuscipes fuscipes* with 22% of identified blood meals. Bloodmeals were collected from flies. The distribution of hematophagous flies caught is heterogeneous in the 4 parks studied (Figure 2). Ivindo national park is the park where we caught much fewer hematophagous flies compared to Lékédi national park ( $Z=0.81$ ,  $P\text{-value}=0.04$ ), Lopé national park ( $Z=0.29$ ,  $P\text{-value}=0.02$ ) and Moukalaba-Doudou national park ( $Z=0.85$ ,  $P\text{-value}=0.04$ ). In addition the yield of hematophagous flies capture is better in dry season than in rainy season ( $Z=2.7$ ,  $P\text{-value}=0.02$ ). Almost all of identified hematophagous species were present in 4 parks studied except *G. fusca congolensis*, *G. tabaniformis*, *S. transvittatus*, *Haematopota sp.* and *Tabanus par* (figure 2).

Out of 4099 caught flies 1230 (30%) were engorged on. After molecular analysis, 21 species of vertebrate hosts were found for 428 (35%) blood meals including 12 families and 8 orders (Table 2 and figure 3). On 428 identified blood meals, 174 come from Moukalaba-Doudou national park (114 in dry season and 60 in rainy season), 132 in La Lopé National Park (78 in dry season and 54 in rainy season), 116 in La Lékédi park (95 in dry season and 21 in rainy season) and 6 in Ivindo national park in dry season. Ivindo national park is where we got fewer blood meals probably due to the low abundance of captured hematophagous flies. The rate of identified blood meals is dependent of season with a best identification in blood meal collected during dry season ( $Z=2.5$ ,  $P\text{-value}=0.008$ ). 51% of identified species are issued from *G. palpalis palpalis* including mammals, reptiles and birds, 22% from *G. fuscipes fuscipes* and 10% from *G. fusca*

*congolense*. These three species seems to be biologic models most representative to study wild fauna using a non-invasive method.

### ***Pathogens identification from blood meals***

From 428 analysed bloodmeals, *Plasmodium* genome was detected in 10% (table 3). Six “*Plasmodium*” species were identified: 52% *Hepatocystis sp.*, 34% *Plasmodium falciparum*, 7% *Plasmodium sp. gorilla G2*, 2.33% *Plasmodium sp. gorilla G1*, 2.33% *Haemoproteus columbae* and 2.33% *Unidentified haemosporidae*. Randomly chooses 7% of unidentified hosts were infected *Plasmodium falciparum*, *P. sp. gorilla G2*, *Hepatocystis sp.* and an *unidentified haemosporidae*.

### **Discussion**

Our study confirms that blood meals collected from hematophagous flies can be analysed using molecular tools to identify the vertebrate blood source (Muturi et al. 2011). A low number of blood meals (30%) has been collected from 4099 hematophagous flies dissected. This result is consistent with other results found in the literature (Gouteux et al. 1982; Dagnogo et al. 1985; Simo et al. 2008) where they show that hematophagous flies caught using traps are often hungry and in search for a blood meal or they need to complete their blood meal. Other methods using a dip net seems to have a best capture efficiency than us with more than 40% of engorged flies caught on their resting places (Gouteux et al. 1984). However this method requires spending a lot of time in the field because of difficulties to found the resting sites and to catch flies. The low rate (35%) of identified blood meals compared to the obtained meals could be explained by the degradation of DNA of host during the digestion process in the midgut of flies. The stage of digestion probably influences the DNA degradation and the probability to identify the host. Furthermore, 99% of the collected blood meals were provided by tsetse flies with 51% by *Glossina palpalis palpalis*. Tsetse flies seem to be an interesting model to study blood meals because they present many advantages unlike *Stomoxys* and Tabanidae. Indeed, contrary to stomoxes and tabanids, both sexes in tsetse are exclusively hematophagous. In addition, *G. p. palpalis* is considered as an opportunistic species in the host choice to bite (Weitz 1963; Clausen et al. 1998; Simo et al. 2008; Kohagne et al. 2010). However, stomoxes and tabanids have a feeding behavior that differs following sexes and their biology which explains a smaller number of collected blood meal. In stomoxes, although both sexes are hematophagous, male sometimes eats the nectar (Wall &

Shearer 1997) and the digestion of stomoxes starts most quickly (Lehane 1976; 1987; Mofatt et al. 1995) than the other hematophagous flies. In Tabanidae, male and female feed on nectar after hatching; it is only after having been fertilized that only the females become bloodsucking (Mullens 2002). This feeding behaviour makes *Stomoxys* and Tabanidae, engorged flies difficult to capture.

The host diversity identified in this study is large. Indeed, this one included terrestrial and semi-aquatic mammals (hippopotamus), reptiles and birds. This diversity observed can be due to the high mobility of tsetse, their opportunistic behaviour and their frequent feeding. Tsetse flies are the main producer of blood meal and very few hematophagous arthropods have so many advantages. Both sexes are hematophagous, very mobile and opportunistic as *G. p. palpalis* that feed on all species identified in our study. Male have blood meals smaller than those of females (Weitz 1963), not to compromise their responsiveness and speed of flight. But their high mobility (15 to 30 min flight by day) to search females makes them more vulnerable to traps. Thus they are often captured and their blood meals are fresher than those of females (Katunguka-Rwakishay & Kabagambe 1996).

In addition, 293 blood meals were collected and identified in dry season and 135 in rainy season. The rate of collected and identified blood meals is dependent of season with a best rate in blood meal collected during dry season. So it is more profitable to sample during the dry season to collect the maximum of engorged flies. In Uganda, Katunguka-Rwakishay & Kabagambe (1996) have shown that 20% of dissected tsetse flies collected in the dry season contain a fresh blood meal against 8% in the rainy season.

Regarding pathogen detection, we tested first the 428 blood meals for which the vertebrate origin was successfully identified. Among 10% of them genome of haemosporidian parasites was detected. In addition, we randomly tested 100 among the 802 unidentified bloodmeals for the presence of haemosporidian parasites and we detected 6 were positive to *Plasmodium*. Together these results show that blood meals collected from hematophagous flies are suitable for the sampling of blood and pathogens from wild animals. Haemosporidian pathogens ingested by hematophagous flies during its blood meal can remain detectable in the digestive tract of the fly even after digestion of the blood meal. We observe a certain logical between the identified hosts and the pathogens detected in this hosts. It is the case for example among haemosporidian parasites, *Plasmodium falciparum*.

*parum* to humans, *Plasmodium sp. gorilla* to great apes and *Haemoproteus columbae* to birds. The blood meals infected by *Plasmodium falciparum* and *P. sp. gorilla G2* and whose hosts were identified (11 and 3 blood meals respectively), came from humans and gorillas respectively. The only blood meal infected by *Haemoproteus columbae* came from a bird. Therefore, in the case of *Plasmodium* infections, we can infer the unknown host from the detected *Plasmodium* species (Figure 4). This phylogenetic tree shows us the different *Plasmodium* species detected in different host species. Thus we can infer the unknown host species whose plasmodium tests were positive. For example for the sample n°1036 infected by a parasite clustering with parasites infecting *Tragelaphus spekii* (commonly named *Sitatunga*), it is probable the bloodmeal was taken on a *Tragelaphus spekii* (The blood meal of unknown host n°110 could have as origin a *Kinixys* turtle (*Kinixys sp.*). To finish, blood meals of unknown host's n°649, 520, 665, 512 and 819 could be issued from humans (*Homo sapiens*).

The use of hematophagous flies as flying syringe could lead to improvement of public health management enabling the early detection of zoonosis in the goal to avoid massive infection such as the case of Ebola in 2002-2003 in Democratic Republic of Congo (Leroy et al. 2004; Bermejo et al. 2006) and in Guinea Conakry, Liberia and Sierra Leone recently. Traditional methods for monitoring based on direct and indirect observation of wildlife (footprints, feces, nest sites...) have logistic and human costs due to the mobilization of several experts (native guides, taxonomists, ecologists...). These traditional methods are disappearing to let place to new technologies more flexible and less risky such as camera trap, drones and satellite monitoring (Ahumada et al. 2011; Koh & Wich 2012). For example, the use of camera trap considerably reduces physical effort, the risk of attack by wild animals and allows inventory rare animals. However, this type of equipment is very expensive and thus not be accessible to all researchers, especially those in the south states who have very few resources allocated to research. In addition to these methods, some authors suggest the use of genetic material acquired non-invasively to inventory and identify wildlife. Sampling of animal hair, urine and feces has long been used to identify vertebrates present in a environment (Palsboll et al. 1997; Kohn et al. 1999; Taberlet et al. 1999; Pearse et al. 2001; Egger et al. 2003; Taberlet et al. 2012). Now blood meals from arthropods are used to identify and make an inventory to biodiversity in an ecosystem and for diseases detection.

## **Conclusion**

Despite significant scientific advances in the medical field, human is still unable to predict where, when and how epidemics arise. However 75% of emergent and reemergent diseases in humans are zoonotic. When humanity struggles against the extinction of animal species, human will be more forced to share its environment with these animals' species that are potential reservoirs of diseases transmitted in presence of vectors. We propose here a tool that can help to understand pathogens which circulates in wildlife in using non-invasive methods. Without vectors, the risk of disease transmission is minimal. It is well known the regular capture of vectors reduces significantly their abundance in environment (Cano et al. 2007). The use of hematophagous flies as non-invasive sampling tools will have double advantage: 1. The diminution of vectors in environment, 2. The prediction of potential pathogens hosted by different host species.

## **Acknowledgements**

This study was carried out with a financial support of: "Agence Universitaire de la Francophonie" (AUF), the "Service de Cooperation et d'Action Culturelle" (SCAC) of Embassy of France in Gabon, the "Institut Français" of Libreville, the "Conseil Régional de Bourgogne" and the "BQR of Université de Bourgogne". Special thanks Nancy MOUKODOUM and Lauriane YACKA for their assistance in molecular analysis. Flies sampling has been made by permission of the: "Centre National de Recherche Scientifique et Technologique" (CENAREST) and "Agence National des Parcs Nationaux" (ANPN).

## **References**

1. AbuBakar S, Chang LY, Ali ARM, Sharifah SH, Yusoff K, Zamrod Z. 2004. Isolation and molecular identification of Nipah virus from pigs. *Emerging Infectious Diseases*, 10: 2228-2230.
2. Acapovi G, Yao Y, N'goran E, Dia ML, Desquesnes M. 2001. Abondance relative des tabanidés dans la région des savanes de Côte d'Ivoire. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 54: 974-980.
3. Ahumada JA, Silva CE, Gajapersad K, Hallam C et al 2011. Community structure and

diversity of tropical forest mammals: data from a global camera trap network. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 366: 2703-11.

4. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403-410.

5. Apperson CS, Harrison BA, Unnasch TR, et al. 2002. Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identification of *Culex* mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, 39: 197-204.

6. Barbazan P, Thitithanyanont A, Missé D, Dubot A, Bosc P et al. 2008. Detection of H5N1 avian influenza virus from mosquitoes collected in an infected poultry farm in Thailand. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 8 : 105-110.

7. Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. 2010. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 38 (Database issue): D46-D51.

8. Bermejo M, Rodriguez-Teijeiro JD, Illera G, Barroso A, Vilà C, Walsh PD. 2006. Ebola outbreak killed 5000 gorillas. *Science*, 314: 1564-1564.

9. Bitome Essono PY, Dechaume-Moncharmont FX, Mavoungou J, Obiang Mba R, Duvallet G, Bretagnolle F. 2015. Distribution and abundance of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae) in two national parks of Gabon. *Parasite*, 22: 23.

10. Boakye A, Tang J, Truc P, Merriweather A, Unnasch TR. 1999. Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Medical and Veterinary Entomology*, 13: 282-287.

10. Bongiorno G, Habluetzel A, Khoury C, Maroli M. 2003. Host preferences of phlebotomine sandflies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Tropica*, 88: 109-116.

11. Brunhes J, Cuisance D, Geoffroy B, Hervy JP. 1998. Les glossines ou mouches tsé-tsé. Logiciel d'identification et d'enseignement. Eds ORSTOM, Montpellier, France.

12. Cano J, Descalzo MA, Ndong-Mebale N, Ndong-Asumu P, Bobuakasi L, Buatiché JN, Nzambo-Ondo S, Ondo-Esono M, Benito A, Roche J. 2007. Predicted distribution and movement of *Glossina palpalis palpalis* (Diptera: Glossinidae) in the wet and dry season in the Kogo trypanosomiasis focus (Equatorial Guinea). *Journal of Vector Ecology*, 32: 218-225.

13. Chua KB, Lam SK, Koh CL, Hooi PS, Wee KF, Kong JH, et al. 2000. Reservoir of Nipah virus identified. *Proceeding of the International Conference on Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, USA, Session 78.

14. Clauden PH, Adeyemi B, Bauer B, Breloer M, Salchow F, Staak C. 1998. Host-preferences of tsetse (Diptera: Glossinidae) based on blood meal identifications. *Medical*



and Veterinary Entomology, 12: 169-180.

15. Dagnogo M, Lohuirignon K, Gouteux JP. 1985. Comportement alimentaire des populations péridomestiques de *Glossina palpalis* (Robineau-Desvoidy) et *Glossina tachinoides* Westwood du domaine guinéen de Côte d'Ivoire. Cahier de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie, 23: 3-8.

16. Daszak P, Tabor GM, Kilpatrick AM, Epstein J, Plowright R. 2004. Conservation medicine and a new agenda for emerging diseases. Annals of the New York Academy of Sciences, 1026: 1-11.

17. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2010. Emerging infectious diseases of wildlife: Treats to biodiversity and human health. Science, 287: 443.

18. Dereeper A, Guignon V, Blanc G, Audic S, Buffet S et al. 2008. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. Nucleic Acids Research, 36: W465-W469.

19. Eggert LS, Eggert JA, Woodruff DS. 2003. Estimation population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. Molecular Ecology, 12: 1389-1402.

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

21. Ford J. 1970. The geographical distribution of *Glossina*. In the *African Trypanosomiases* (Ed. by Mulligan H. W.). George Allen & Unwin, London: pp. 274-295.

22. Garros C, Gilles J, Duvallet G. 2004. Un nouveau caractère morphologique pour distinguer *Stomoxys calcitrans* et *S. niger* (Diptera: Muscidae). Comparaison de populations de l'île de La Réunion. Parasite, 11: 329-332.

23. Gilles J, David JF, Duvallet G, De la Rocque S, Tillard E. 2007. Efficiency of traps for *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* on Reunion Island. Medical and Veterinary Entomology, 21: 65-9.

24. Gouteux JP, Bois JF, Laveissière C, Couret D, Mustapha A. 1984. Ecologie des glossines en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. 9. Les lieux de repos. Cahier de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie, 22: 159-174.

25. Gouteux JP, Dongo P, Coulibaly D. 1982. Observations sur les glossines d'un foyer forestier de trypanosomiase humaine en Côte d'Ivoire. 3. Dispersion et distribution des populations autour d'un village. Tropical Medicine and Parasitology, 33: 119-128.

26. Hall TA. 1999. BioEdit: a user- friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98.

27. Humphrey-Smith I, Chastel C. 1988. Potential for mechanical transmission of human

immunodeficiency virus but the hut tampan, *Ornithodoros moubata*. The Medical Journal of Australia, 149: 505-506.

28. Humphrey-Smith I, Donker G, Turzo A, Chastel C, Schmidt-Mayerova H. 1993. Evaluation of mechanical transmission of HIV by the African soft tick, *Ornithodoros moubata*. AIDS, 7: 341-347.

29. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature, 451: 990-993.

30. Katunguka-Rwakishaya E, Kabagambe EK. 1996. Tsetse survey in Mukono District, south-east Uganda: Population structure, distribution and blood meal status. Tropical Animal Health and Production, 28: 151-157.

31. Kent RJ. 2009. Molecular methods for arthropod bloodmeal identification and applications to ecological and vector-borne disease studies. Molecular Ecology Resources, 9: 4-18.

32. Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, et al. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 86: 6196-6200.

33. Koh LP, Wich SA. 2012. Dawn of drone ecology: low-cost autonomous aerial vehicles for conservation. Tropical Conservation Science, 5: 121-132.

34. Kohagne-Tongué L, Mengue-M'Eyi P, Mimpfoundi R, Louis FJ. 2010. Régime alimentaire des glossines et diversité des espèces de trypanosomes dans un foyer actif de trypanosomose humaine africaine au Gabon. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 103: 264-271.

35. Kohn MH, York EC, Kamradt DA, Haught G, Sauvajot RM, Wayne R. 1999. Estimating population size by genotyping faeces. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 266: 657-663.

36. Kuiken T, Leighton FA, Fouchier RA, LeDuc JW, Peiris JS, Schudel A, Stohr K, Osterhaus AD. 2005. Public health. Pathogen surveillance in animals. Science, 309: 1680-1681.

37. Laveissiere C, Grebaut P. 1990. Recherches sur les pièges à glossines (Diptera: Glossinidae). Mise au point d'un modèle économique: Le piège «Vavoua». Tropical Medicine and Parasitology, 41, 185-192.

38. Laveissière C, Hervouët JP. 1981. Population de glossines et occupation de l'espace. Enquête entomologique préliminaire dans la région de la Lobo (Côte-d'Ivoire). Cahiers ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie, 19: 247-260.

39. Lehane MJ. 1976. Digestive enzyme secretion in *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). Tissue and Cell, 170: 275-287.

40. Lehane MJ. 1987. Quantitative evidence for merocrine secretion in an insect midgut

cell. Tissue and Cell, 19: 451-561.

41. Leroy EM, Rouquet P, Formenty P, Souquiere S, Kilbourne A, Froment JM, Bermejo M, Smith S, Karesh W, Swanepoel R, Zaki SR, Rollin PE. 2004. Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science*, 303: 387-390.

42. Li W, Shi Z, Yu M, Ren W, Smith C, Epstein JH. et al. 2005. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 310: 676-679.

43. Mavoungou JF, Jay-Robert P, Gilles J, Atsame E, Duvallet G. 2008b. Ecology of *Stomoxys* flies (Diptera: Muscidae) in Gabon. First survey in different ecological areas. *Parasite*, 15: 27-34.

44. Mavoungou JF, Simo G, Gilles J, De-Stordeur E, Duvallet G. 2008a. Ecologie des stomoxes (Diptera: Muscidae) au Gabon. II. Origine des repas de sang et conséquences épidémiologiques. *Parasite*, 15: 611-615.

45. Mihok S. 2002. The development of a multipurpose trap (the Nzi) for tsetse and other biting flies. *Bulletin of Entomological Research*, 92: 385-403.

46. Moffatt MR, Blakemore D, Lehane MJ. 1995. Studies on the synthesis and secretion of digestive trypsin in *Stomoxys calcitrans* (Insecta-Diptera). *Comparative Biochemistry and Physiology*, B110B: 291-300.

47. Morand S, Krasnov BR, Poulin R. 2006. *Micromammals and macroparasites*. Tokyo, Springer Verlag.

48. Mukabana WR, Takken W, Knols BGJ. 2002. Analysis of arthropod blood meals using molecular genetic markers. *Trends in Parasitology*, 18, 11.

49. Mullens BA. 2002. Horse flies and deer flies (Tabanidae). In: Mullen G, Durden L. (Eds.), *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press, San Diego, pp. 263-277.

50. Muturi CN, Ouma JO, Malele I, Ngure RM, Rutto JJ, Mithöfer KM, et al. 2011. Tracking the feeding patterns of tsetse flies *Glossina* Genus by analysis of bloodmeals using mitochondrial cytochromes genes. *PLoS ONE*, 6: e17284.

51. Njiokou F, Laveissiere C, Simo G, Nkinin S, Grébaud P, Cuny G, Herder S. (2006). Wild fauna as a probable animal reservoir for *Trypanosoma brucei gambiense* in Cameroon. *Infection Genetics and Evolution*, 6: 147-153.

52. Njiokou F, Simo G, Nkinin SW, Laveissiere C, Herder S. 2004. Infection rate of *Trypanosoma brucei s.l.*, *T. vivax*, *T. congolense* "forest type", and *T. simiae* in small wild vertebrates in south Cameroon. *Acta Tropica*: 92: 139-146.

53. Njitchouang GR, Njiokou F, Nana-Djeunga H, Moundipa-Fewou P, Asonganyi T, Cuny G. 2010. Analysis of the domestic animal reservoir at a microgeographical scale, the Fontem sleeping sickness focus (South-West Cameroon). *Journal of Cell and Animal Biology*, 4 (5): 73-80.

54. Oldroyd H. 1973. Tabanidae, in: Insects and other arthropods of medical importance. Smith K.G.V. (ed), British Museum (Natural History), London: 195-202.
55. Oldroyd H. The horse flies (Diptera: Tabanidae) of the Ethiopian region. British Museum (Natural History), London, 1952, vol. I, 226 p. ; 1954, vol. II, 341 p. 1957, vol. III, 489 p.
56. Palsboll PJ, Allen J, Bérubé M. et al. 1997. Genetic tagging of humpback whales. *Nature*, 388: 767-769.
57. Pattyn S, Jacob W, Vandergroen G, Piot P, Courteille G. 1977. Isolation of Marburg-like virus from a case of hemorrhagic fever in Zaire. *Lancet*, 1: 573-574.
58. Pearse DE, Eckerman CM, Janzen J, Avise JC. 2001. A genetic analogue of 'mark-recapture' methods for estimating population size: an approach based on molecular parentage assessments. *Molecular Ecology*, 10: 2711-2718.
59. Pollock JN. 1982. Training manual for tsetse control personnel. Tsetse biology; systematics and distribution; techniques. FAO, 280p.
60. Prugnolle F, Duranda P, Neelb C, Ollomo B, Ayala FJ, et al. 2010. African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 107: 1458-1463.
61. Richards SL, Ponnusamy L, Unnasch TR, Hassan HK, Apperson CS. 2004. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in relation to availability of human and domestic animals in suburban landscapes of central North Carolina. *Journal of Medical Entomology*, 43: 543-551.
62. Sawabe K, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, et al. 2006. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 327-332.
63. Schnell IB, Thomsen PF, Wilkinson N, Rasmussen M, et al. 2012. Screening mammal biodiversity using DNA from leeches. *Curr Biol*, 22: R262-R3.
64. Simo G, Njiokou F, Mbida-Mbida JA, Njitchouang GR, Herder S, Asonganyi T, Cuny G. 2008. Tsetse fly host preference from sleeping sickness foci in Cameroon: epidemiological implications. *Infection Genetics and Evolution*, 8: 34-9.
65. Simo G, Njitchouang GR, Njiokou F, Cuny G, Asonganyi T. 2012b. Genetic characterization of *Trypanosoma brucei* circulating in domestic animals of the Fontem sleeping sickness of Cameroon. *Microbes and Infection*, 14: 651-658.
66. Simo G, Silatsa B, Njiokou F, Lutumba P, Mansinsa P, Madinga J, Manzambi E, De-Deken R, Asonganyi T, 2012a. 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. *Parasites and Vectors*, 5: 201.

67. Spath J. 2000. Feeding patterns of three sympatric tsetse species (*Glossina spp.*) (Diptera:Glossinidae) in the preforest zone of Côte d'Ivoire. *Acta Tropica*, 75: 109-118.

68. Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg LH. 2012. Environnement DNA. *Molecular Ecology*, 21: 1789-1793.

69. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse MEJ. 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 356: 983-989.

70. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.

71. Townzen JS, Brower AVZ, Judd DD. 2008. Identification of mosquito bloodmeals using mitochondrial cytochrome oxidase subunit I and cytochrome b gene sequences. *Medical and veterinary entomology*, 22: 386-393.

72. Waiswa C, Picozzi K, Katunguka-Rwakishaya E, Olaho-Mukani W, Musoke RA, Welburn SC. 2006. *Glossina fuscipes fuscipes* in the trypanosomiasis endemic areas of south eastern Uganda: Apparent density, trypanosome infection rates and host feeding preferences. *Acta Tropica*, 99: 23-29.

73. Wall R, Shearer D. 1997. *Veterinary Entomology*. Chapman & Hall: London.

74. Webb PA, Happ CM., Maupin GO, Johnson JB, Ou CY, Monath TP. 1989. Potential for insect transmission of HIV: experimental exposure of *Cimex hemipterus* and *Toxorhynchites amboinensis* to Human Immunodeficiency Virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 160: 970-977.

75. Weitz B. 1963. The feeding habits of *Glossina*. *Bulletin of the World Health Organization*, 28: 71 1-729.

76. Wolfe ND, Daszak P, Kilpatrick AM, Burke DS. (2005). Bushmeat hunting, deforestation, and predicting zoonotic emergence. *Emerging Infectious diseases*, 11: 1822-1827.

77. Woolhouse ME, Howey R, Gaunt L, Reilly L, Chase-Topping M, Savill N. 2013. Temporal trends in the discovery of human viruses. *Proceedings the Royal Society: Biology*, 275: 2111-2115.

78. Woolhouse ME, Gaunt L. 2007. Ecological origins of novel human pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*, 33: 231-242.

79. Zinga-Kouma R, Bouyer J, Mavoungou JF, Acapovi-Yao GL, et al. 2013. Evaluation de la diversité des diptères hématophages dans une clairière marécageuse du Gabon à l'aide des pièges Vavoua et Nzi. *Revue d'Elevage et de Medecine Vétérinaire des Pays*

Tropicaux, 66: 91-96.

80. Zumpt F. 1973. The Stomoxyinae biting flies of the world. In: Taxonomy, Biology, Economic Importance and Control Measures, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 175pp.

### **Tables and legends:**

**Table 1:** Number of blood meals collected and apparent density (ADT) of vector species distributed in 4 parks (Moukalaba-Doudou National Park, Lopé National Park, Lékédi Park and Ivindo National Park) according to climatic seasons (rainy and dry seasons).

**Table 2:** Number of blood meals identified by each vector species on the different hosts identified according to parks and climatic seasons. Vt1 = *Glossina caliginea*; Vt2 = *G. fusca congolensis*; Vt3 = *G. fuscipes fuscipes*; Vt4 = *G. pallicera newsteadi*; Vt5 = *G. palpalis palpalis*; Vt6 = *S. calitrans*; Vt7 = *S. niger niger*; Vt8 = *Chrysops sp.*

**Table 3:** Number of infections of different host species to *Plasmodium* species according to different parks and climatic seasons. Host1= *Cephalophus silvicultor*; Host2= *Gorilla gorilla*; Host3= *Ciconia sp*; Host4= *Homo sapiens*; Host5= *Syncerus caffer*; Host6= *Tragelaphus eurycerus*; Host7= *Tragelaphus spekii*; Host8= Unknown host; Host9= *Hippopotamus amphibius*; Host10= *Kobus ellipsiprymnus*; Host11= *Mecistops cataphractus*; Host12= *Kinixys erosa*; Host13= *Loxodonta cyclotis*; Host14= *Pelusios chapini*; Host15= *Python sabae*; Host16= *Tragelaphus scriptus*.

### **Figures and legends:**

**Figure 1:** Illustration of the study zone: Moukalaba-Doudou national park, Lopé national park, Lékédi park and Ivindo national park.

**Figure 2:** Scatterplot of apparent density by trap and by day (ADT) of hematophagous flies according to parks. In red, is fitted regression model line.

**Figure 3:** Abundance of different hosts identified from blood meal of hematophagous flies.

**Figure 4:** Phylogeny of the different *Plasmodium* species detected in different host species.

**Table 1:**

	Apparent density by trap and by day (ADT) of hematophagous flies										
	%	Blood meals		Moukalaba-Doudou		Lopé		Lékédi		Ivindo	
		Engorged (N)	Identified (N)	Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season
<b>Glossinidae (N=2252)</b>	<b>54.94</b>	<b>1218</b>	<b>423</b>	<b>0.87</b>	<b>2.29</b>	<b>0.21</b>	<b>3.7</b>	<b>0.92</b>	<b>1.03</b>	<b>0.04</b>	<b>0.58</b>
<i>G. caliginea</i>	3.51	87	33	0.07	0.19	0.05	0.15	0.06	0.02	0.01	0.01
<i>G. fusca congolensis</i>	5.12	104	42	0.05	0.27	0.09	0.25	0.18	0.07	0	0
<i>G. fuscipes fuscipes</i>	7.07	214	93	0.15	0.31	0.05	0.13	0.02	0.17	0	0.23
<i>G. pallicera newsteadi</i>	3.83	97	37	0.01	0.21	0.01	0.36	0.05	0.08	0	0
<i>G. palpalis palpalis</i>	33.47	662	218	0.48	1.19	0.01	2.8	0.61	0.68	0.02	0.34
<i>G. tabaniformis</i>	1.93	54	0	0.11	0.13	0	0	0	0	0	0
<b>Stomoxys (N=1362)</b>	<b>33.23</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>0.95</b>	<b>0.38</b>	<b>1.25</b>	<b>0.64</b>	<b>0.72</b>	<b>1.77</b>	<b>0.26</b>	<b>0.27</b>
<i>S. calcitrans</i>	5.98	5	2	0.31	0.09	0.19	0.12	0.07	0.19	0	0.04
<i>S. inornatus</i>	8.14	0	0	0.15	0.08	0.38	0.14	0.14	0.33	0.19	0.07
<i>S. niger niger</i>	6.17	4	2	0.06	0.06	0.4	0.05	0.17	0.38	0.05	0.09
<i>S. niger bilineatus</i>	5.46	0	0	0.21	0.07	0.06	0.19	0.14	0.3	0	0.03
<i>S. omega omega</i>	4.81	0	0	0.09	0.01	0.09	0.07	0.17	0.48	0.02	0.05
<i>S. transvittatus</i>	2.66	0	0	0.12	0.05	0.12	0.07	0.02	0.09	0	0
<b>Tabanidae (485)</b>	<b>11.83</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>0.34</b>	<b>0.18</b>	<b>0.37</b>	<b>0.51</b>	<b>0.24</b>	<b>0.36</b>	<b>0.02</b>	<b>0.16</b>
<i>Ancala sp</i>	1	0	0	0.02	0.01	0	0.05	0.07	0	0	0.03
<i>Atylotus sp</i>	2.53	0	0	0.04	0.11	0.19	0.05	0.05	0	0	0.01
<i>Chrysops sp</i>	3.81	3	1	0.24	0.005	0.14	0.09	0.07	0.12	0.01	0
<i>Haematopota sp</i>	0.31	0	0	0	0	0.02	0.05	0	0	0	0
<i>Tabanus par</i>	1.27	0	0	0	0	0	0	0.02	0.12	0	0.08
<i>Tabanus taeniola</i>	2.93	0	0	0.04	0.05	0.02	0.27	0.02	0.12	0.01	0.03
<b>Total (N=4099)</b>	<b>100</b>	<b>1230</b>	<b>428</b>	<b>2.16</b>	<b>2.85</b>	<b>1.83</b>	<b>4.85</b>	<b>1.88</b>	<b>3.16</b>	<b>0.32</b>	<b>1.01</b>

**Table 2:**

				Number of blood meals consumed by vector species (Vt) on the host species identified																																								
				Moukalaba-Doudou					Lopé					Lékédi					Ivindo																									
Taxonomics group	Orders	Family	Host species	Identified	Rainy season					Dry season					Rainy season					Dry season																								
					Vt1	Vt2	Vt3	Vt4	Vt5	Vt1	Vt2	Vt3	Vt4	Vt5	Vt8	Vt1	Vt2	Vt3	Vt4	Vt5	Vt1	Vt2	Vt3	Vt4	Vt5	Vt6	Vt7	Vt1	Vt3	Vt4	Vt5	Vt6	Vt1	Vt2	Vt3	Vt4	Vt5							
Mammals	Artiodactyla			<b>295</b>																																								
		Bovidae	<i>Cephalophus silvicultor</i>	65	1	4	3	8	1	1	7	1	14			2	1		2	3	3	4	1	3							2	1	3											
			<i>kobus ellipsiprymnus</i>	4					3				1																															
			<i>Syncerus caffer</i>	126	3	5	7	1	1	3	2	9			2	1	10	5	7	1	2	8	1	6	1	2	1	1	1	6	1	2	1	1	6	10	8	8	13			1	1	
			<i>Tragelaphus eurycerus</i>	5												2	1	1						1																				
			<i>Tragelaphus spekii</i>	90							1	6			2	1	4	1	2	7	6	9	4	11	1			1	3	1	2	8	5	5	9				1					
		Hippopotamidae	<i>Hippopotamus amphibius</i>	2					1			1																																
		Suidae	<i>Potamochoerus porcus</i>	3					1			2																																
	Carnivora			<b>1</b>																																								
		Herpestidae	<i>Herpestinae sp</i>	1					1																																			
	Primates			<b>67</b>																																								
		Hominidae	<i>Gorilla gorilla</i>	3					2			1																																
			<i>Homo sapiens</i>	64		1	1	13		2	22	1	3	1	2			1	4	1		4	1						4				1	5				1	1					
	Proboscidae			<b>10</b>																																								
		Elephantidae	<i>Loxodonta cyclotis</i>	10								7					1	2																										
Reptiles	Crocodylia			<b>23</b>																																								
		Crocodylidae	<i>Crocodylus niloticus</i>	3									3																															
			<i>Mecistops cataphractus</i>	19		1		1				6																													2	4	2	3
			<i>Osteolaemus tetraspis</i>	1								1																																
	Squamata			<b>12</b>																																								
		Pythonidae	<i>Python sebae</i>	8									2																															
		Varanidae	<i>Varanus niloticus</i>	4							2	1					1																											
	Testudines			<b>16</b>																																								
		Testunidae	<i>Kinixys erosa</i>	1									1																															
		Pelomedusidae	<i>Pelusios castaneus</i>	3							1	1	1																															
			<i>Pelusios chapini</i>	1									1																															
			<i>Pelusios marani</i>	11				3				8																																
Birds	Ciconiformes			<b>4</b>																																								
		Ciconiidae	<i>Ciconia sp</i>	4				1				2																														1		
<b>Total</b>	<b>8 orders</b>	<b>12 families</b>	<b>21 species</b>	<b>428</b>	3	1	11	4	41	2	2	16	4	89	1	6	7	18	7	16	11	11	22	6	25	1	2	2	4	1	13	1	8	20	20	15	32	1	1	2	2			



**Table 3:**

		Number of plasmodium detected in hosts in relation to parks and climatic seasons																	
		Moukalaba-Doudou									Lopé					Lékédi			
		Rainy season			Dry season						Dry season					Rainy season		Dry season	
Plasmodium species	Detected	Host2	Host4	Host8	Host1	Host2	Host3	Host4	Host7	Host8	Host1	Host5	Host6	Host7	Host8	Host5	Host7	Host8	
<i>Haemoproteus columbae</i>	1						1												
<i>Hepatocystis sp</i>	23				1				2		2	1	1	8		1	6	1	
<i>Plasmodium falciparum</i>	15		2					9		4									
<i>Plasmodium sp. gorilla clade G1</i>	1			1															
<i>Plasmodium sp. gorilla clade G2</i>	3	2				1													
<i>Unidentified haemosporidae</i>	1														1				
<b>Total</b>	<b>44</b>	2	2	1	1	1	1	9	2	4	2	1	1	8	1	1	6	1	

Figure 1:

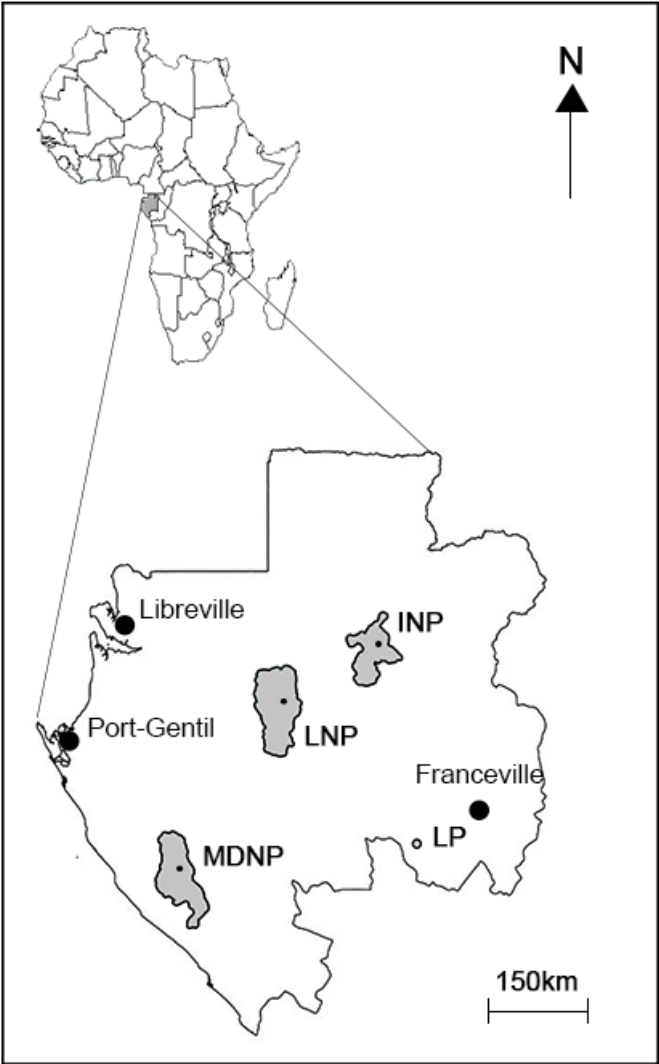


Figure 2:

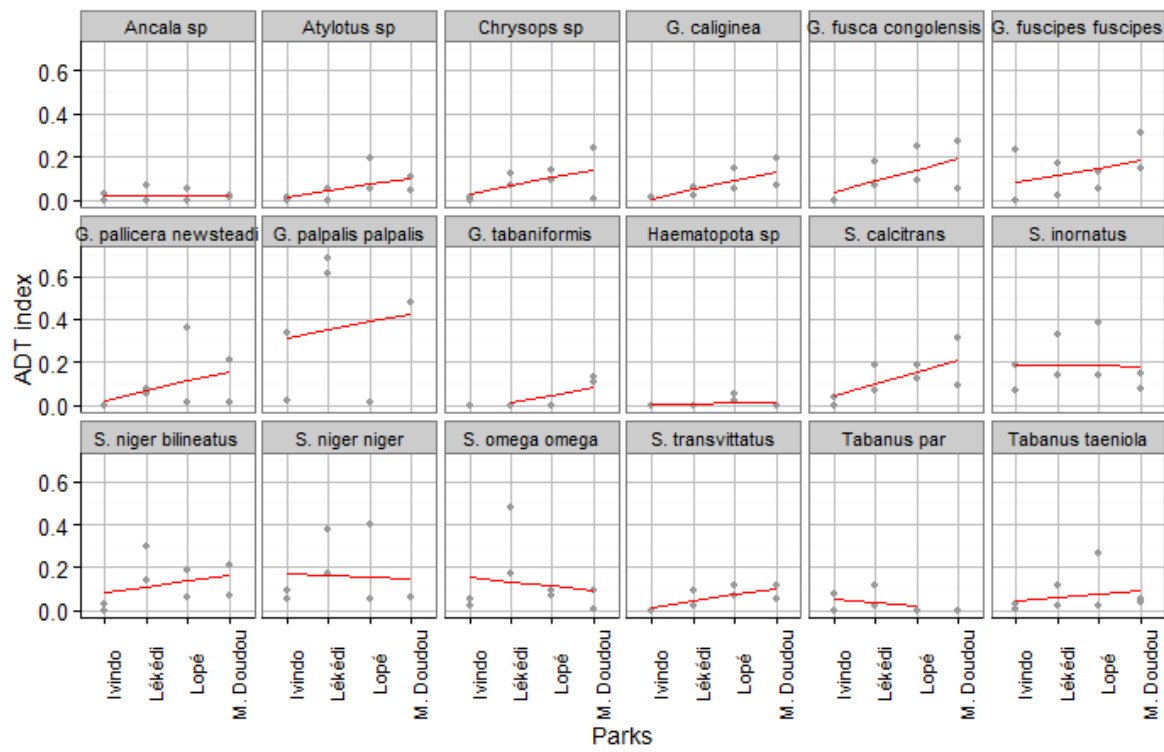
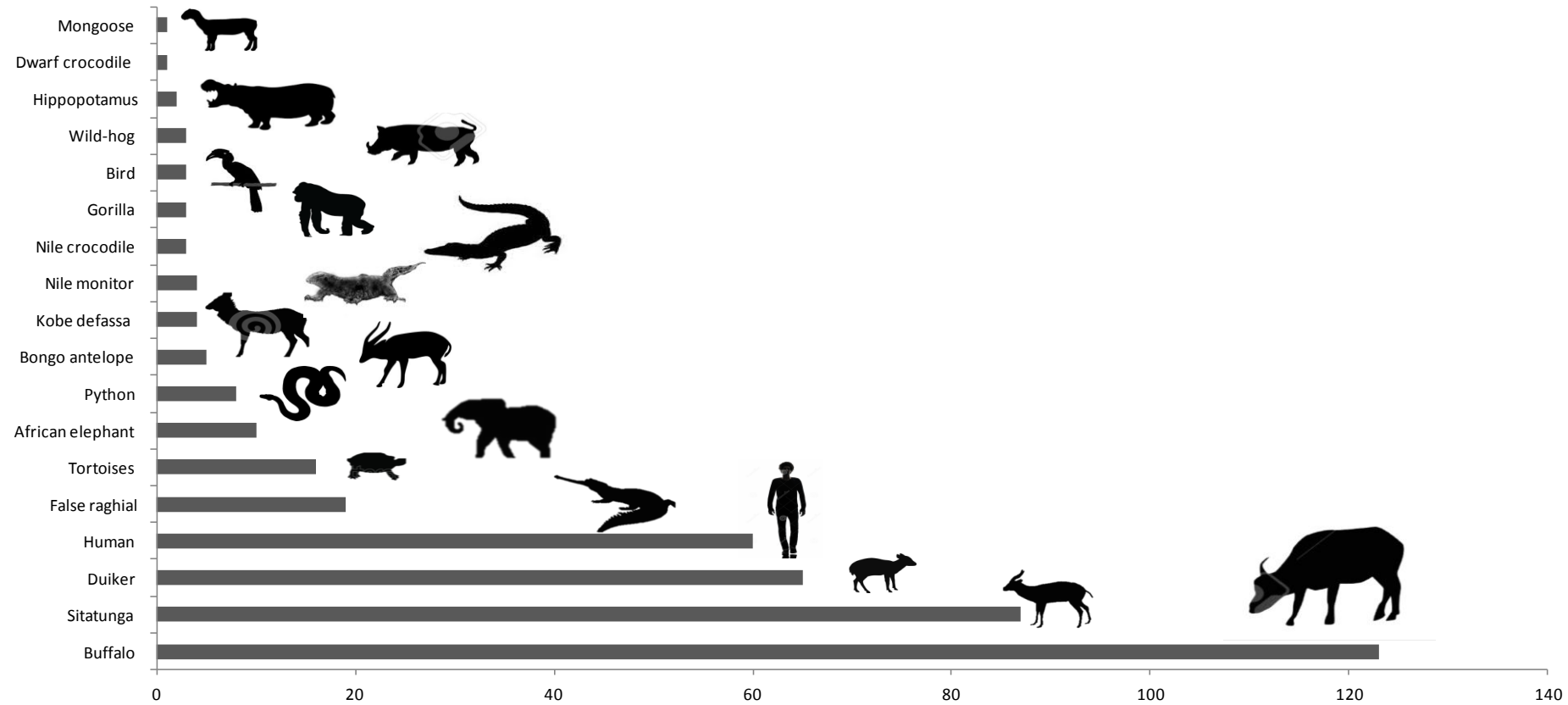
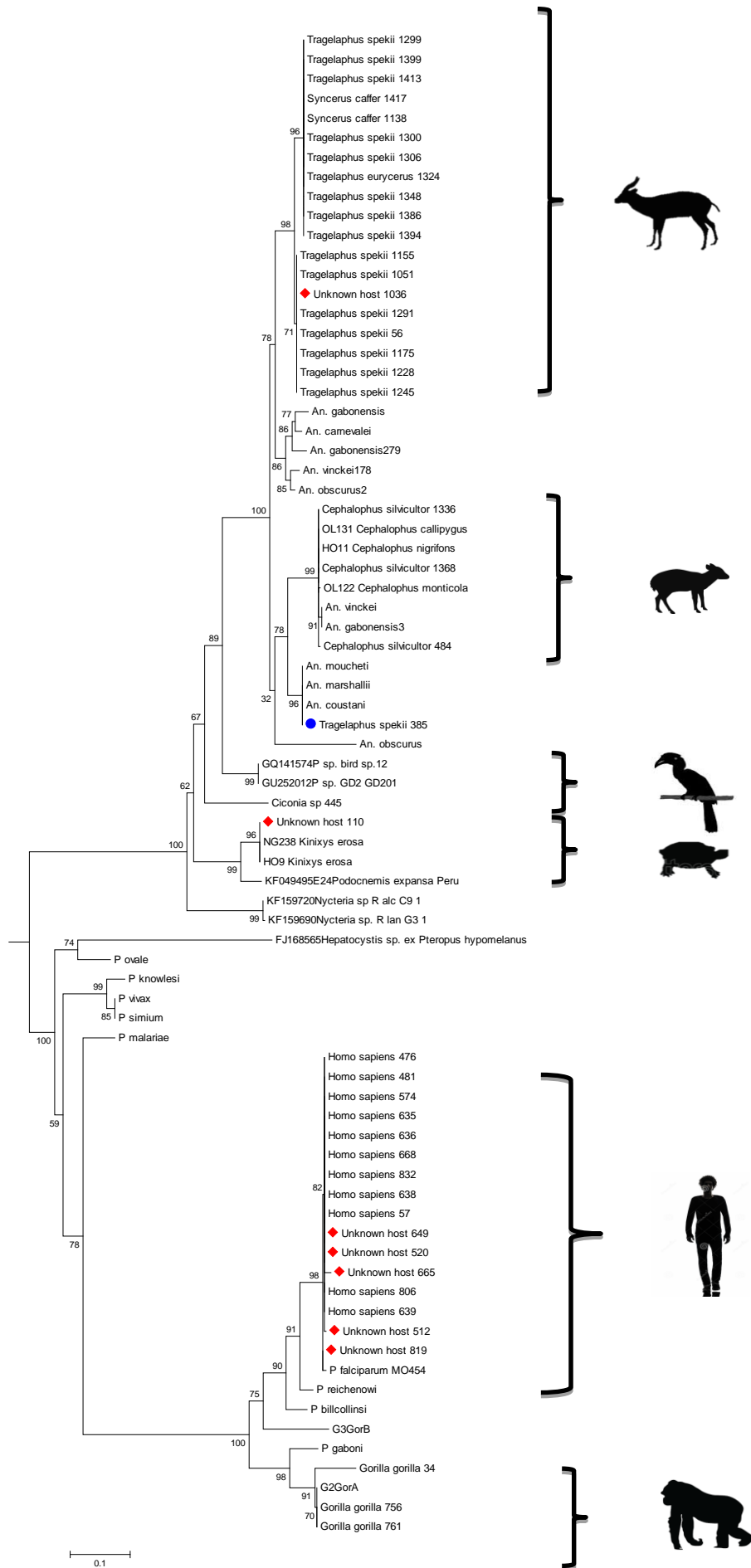


Figure 3:



**Figure 4:**





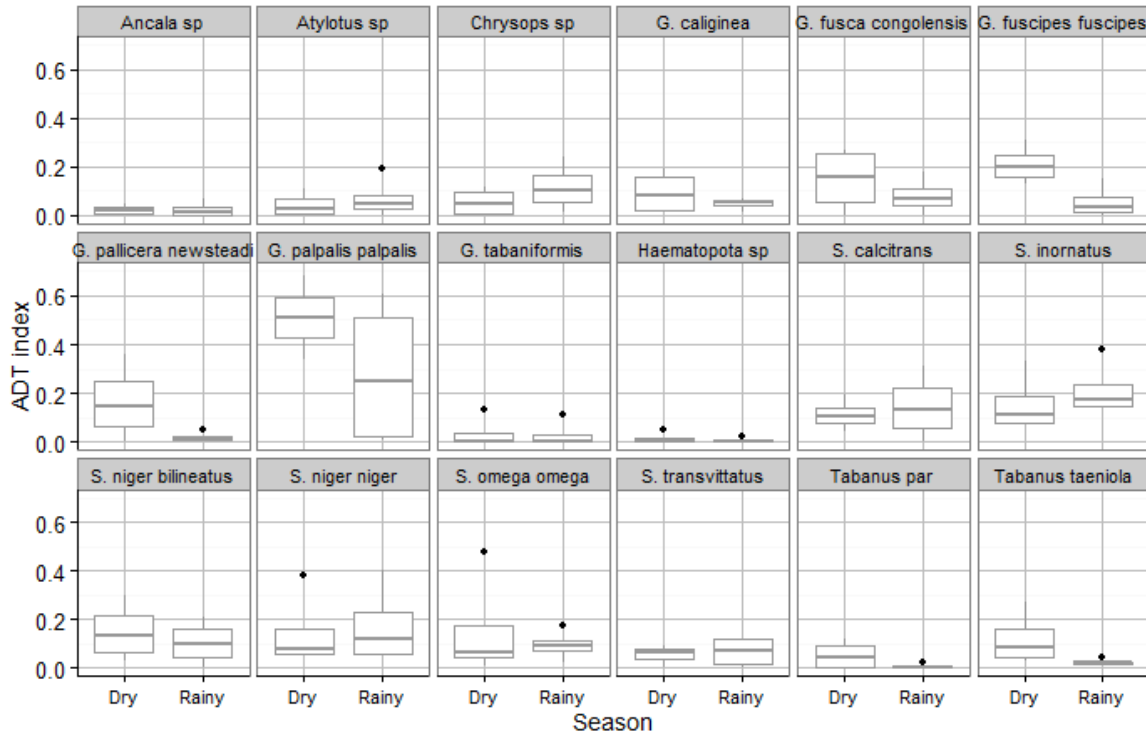
### VI.3] Synthèse des principaux résultats du chapitre III

---

Dans cette étude, nous tentons d'évaluer une nouvelle méthode d'échantillonnage non-invasif des agents infectieux hébergés par la faune sauvage. Stratégiquement, nous avons décidé de ne considérer dans cet article que les résultats des tests concernant les plasmodiums et de mettre de côté ceux des arbovirus et des trypanosomes. Nos recherches d'arbovirus dans les repas sanguins de mouches hématophages n'ont rien donné, et les glossines étant les principaux vecteurs des trypanosomes, les infections détectées peuvent être associées aux vecteurs et pas forcément aux hôtes.

Dans l'ensemble, nous avons capturé 4099 mouches hématophages et identifié quatorze espèces dont six espèces de glossines, six espèces de stomoxes et deux espèces de tabanides. Toutes ces espèces de mouches hématophages identifiées ont quasiment été retrouvées sur l'ensemble des parcs prospectés, excepté quelque unes comme *G. fusca congolensis*, *G. tabaniformis*, *S. transvittatus*, *Haematopota sp.* et *Tabanus par* qui sont absentes dans certains parcs. Nous observons une différence significative de la moyenne de capture de mouches hématophages entre le parc national de l'Ivindo et d'autres comme celui de la Lékédi ( $Z=0.81$ ,  $P\text{-value}=0.04$ ), la Lopé ( $Z=2.29$ ,  $P\text{-value}=0.02$ ), Moukalaba-Doudou ( $Z=0.85$ ,  $P\text{-value}=0.04$ ). Ce faible nombre de captures à l'Ivindo pourrait s'expliquer par la pression de capture exercée dans ce parc national. En effet, ce parc abrite la station de recherche d'IPASSA, site d'échantillonnage de l'Institut de Recherche en Ecologie Tropicale (IRET-CENAREST). Les entomologistes de cet institut de recherche mènent régulièrement les captures de mouches sur le transect que nous avons prospecté (Mavoungou et al., 2008a; 2012; Zinga et al., 2013; 2014). Les captures régulières de mouches hématophages dans un milieu réduisent de façon significative les densités de populations (Cano et al., 2007). De même, nous observons comme un effet saison sur les densités apparentes des différentes espèces de mouches capturées (figure 21). En effectuant un test basé sur le modèle linéaire à effets mixtes, nous constatons une variation significative de la moyenne des densités apparentes de chaque espèce de mouches hématophages entre la saison sèche et la saison des pluies. A l'exception donc de quelques espèces comme *Chrysops sp.*, *Stomoxys inornatus* et *S. omega omega*, l'effet saison est clairement marqué avec plus de captures de mouches hématophages en saison sèche par rapport à la saison des pluies ( $Z=2.7$ ,  $P\text{-value}=0.02$ ).





**Figure 21:** Box plots des densités apparentes (DAP) des différentes espèces de mouches hématophages capturées en fonction des saisons climatiques.

Sur l'ensemble des 4099 mouches hématophages capturées et disséquées, 1230 mouches hématophages (30%) ont été retrouvées gorgées de repas sanguins. Après analyse moléculaire, 428 (35%) repas sanguins seront identifiés jusqu'à l'espèce d'hôte vertébré. Le faible taux de mouches hématophages retrouvées gorgées dans cette étude peut s'expliquer par le fait qu'elles ont été capturées à l'aide d'un simple piège visuel sans attractifs. En effet, il semblerait qu'avec cette méthode de capture, le taux de mouches affamées et à la recherche active d'un repas sanguin est relativement important (Gouteux et al., 1982; Dagnogo et al., 1985). C'est en capturant à l'aide d'un filet sur les sites de repos que certains auteurs ont atteint les 45-50% de repas sanguins collectés lors des études de régimes alimentaires de glossines (Gouteux et al., 1984). Cependant, pour maximiser le taux de capture de mouches hématophages, cette méthode très fastidieuse peut tout simplement être substituée par l'utilisation de substances olfactives (Vale, 1980; Green, 1994; Torr et al., 1997; Baldacchino et al., 2013c; 2013d). En revanche, les mâles glossines dont l'activité secondaire est la recherche des femelles, sont très actifs et sont souvent capturés dans des simples pièges visuels munis de repas sanguins frais (Bursell & Taylor, 1980; Gouteux & Jarry, 1998). D'autre part, le faible nombre de repas sanguins identifiés parmi les 1230 collectés peut s'expliquer par l'état

digestif du repas au moment de la capture de la mouche. Il se peut que certaines mouches hématophages, au moment de leur capture, présentent des repas sanguins dans un état de digestion assez avancé, impliquant ainsi une dégradation de l'ADN de l'hôte.

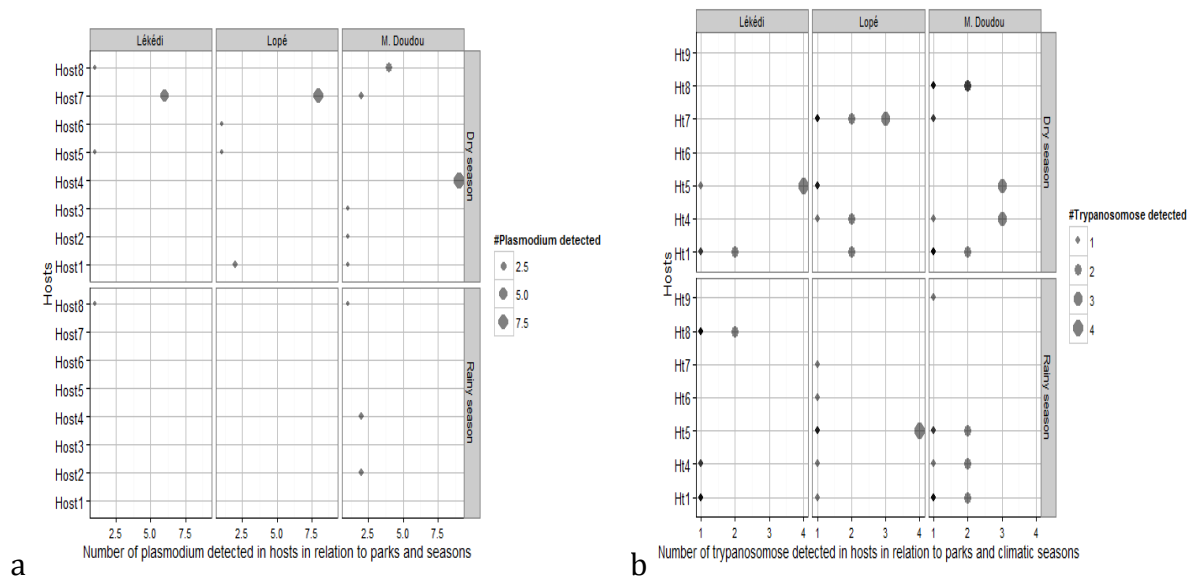
Parmi les 428 repas sanguins identifiés, très peu ont été capturés dans le parc national de l'Ivindo. Cela pourrait être dû au peu de mouches hématophages capturées dans ce parc. Le nombre de repas sanguins récoltés pourrait être lié au nombre de mouches hématophages capturées. Plus l'effort de capture de mouches hématophages est important, plus le nombre de repas sanguins récoltés et identifiés est important dans le milieu. L'effort de capture variant entre le parc de l'Ivindo et les autres, son nombre de repas sanguins collectés aussi diffère des parcs de la Lékédi ( $Z=1.61$ ,  $P\text{-value}=0.006$ ), de la Lopé ( $Z=0.72$ ,  $P\text{-value}=0.01$ ) et de Moukalaba-Doudou ( $Z=1.22$ ,  $P\text{-value}=0.04$ ). Par ailleurs, nous observons également un effet saison sur le taux de repas sanguins collectés et identifiés sur l'ensemble des parcs ( $Z=2.5$ ,  $P\text{-value}=0.008$ ). Autrement dit, nous identifions plus de repas sanguins lorsque nous échantillons en saison sèche par rapport à la saison des pluies.

En regardant de plus près les différentes espèces de mouches hématophages qui nous ont fourni ces repas sanguins identifiés, nous constatons que le groupe taxonomique des glossines est à l'origine de près de 98% des repas sanguins identifiés. En effet, l'essentiel des repas sanguins identifiés dans cette étude a été fourni par 5 espèces de glossines. Ce groupe taxonomique, dont mâles et femelles sont essentiellement hématophages avec des espèces très opportunistes comme *G. palpalis palpalis* et *G. fuscipes fuscipes*, représente un bon outil pour l'échantillonnage non-invasif de la faune. Ces deux espèces de glossines ont fourni respectivement 51% et 22% de l'ensemble des repas sanguins identifiés dans cette étude. En revanche, le faible nombre de repas sanguins fourni par les stomoxes peut s'expliquer par le comportement alimentaire de ces mouches hématophages, mais également par leur physiologie. Bien que mâles et femelles soient hématophages chez les stomoxes, les mâles de certaines espèces comme *Stomoxys niger niger* peuvent se nourrir de nectar (Wall & Shearer, 1997). Aussi, chez ces insectes la digestion commence immédiatement après la prise du repas sanguin et peut avoir lieu plus rapidement que chez les autres arthropodes hématophages en raison des fortes sécrétions d'enzymes digestives (Lehane, 1976; 1987; Mofatt et al., 1995). De même,

chez les tabanides mâles et femelles se nourrissent de nectars après leur éclosion, et ce n'est qu'une fois fécondées que seules les femelles ont besoin de repas sanguins pour la maturation de leurs œufs (Mullens, 2002). Ces différents comportements alimentaires et physiologiques pourraient expliquer le peu de repas sanguins retrouvés chez ces deux groupes taxonomiques.

A propos des agents infectieux, nous avons principalement testé les plasmodiums, les trypanosomes et quelques arbovirus (pan-alpha, pan-flavi et pan-phlébo) dont nous disposons des protocoles de biologie moléculaire. Chaque repas sanguin récolté a été divisé en deux pour extraire d'une part l'ADN nécessaire à l'identification de l'hôte vertébré et les agents pathogènes à ADN (plasmodiums et trypanosomes), et extraire de l'autre part l'ARN nécessaire à la recherche des arbovirus. Ainsi, pour un repas sanguin provenant d'une mouche hématophage, nous aurions identifié l'hôte vertébré qui a été piqué, mais aussi d'éventuels pathogènes à ADN et ARN dont il est potentiellement réservoir. Mais aucun de nos échantillons ne s'est révélé positif aux différents arbovirus recherchés et ce résultat reste un peu difficile à expliquer. Le transport de nos échantillons d'ADN et ARN de Franceville au Gabon vers Montpellier en France s'est effectué à l'aide d'une glacière remplie de glace, faute de carboglace. Contrairement à l'ADN qui est capable de se conserver à des températures relativement élevée (4-10°C), l'ARN est très sensible et se dégrade assez rapidement au-dessus des 0°C. De ce fait, trois explications possibles peuvent expliquer nos résultats: (i) les hôtes sur lesquels les repas sanguins ont été prélevés n'étaient pas infectés aux arbovirus recherchés, (ii) nos échantillons biologiques (ARN) se sont dégradés au cours du voyage de Franceville à Montpellier, (iii) ou c'est la technique d'échantillonnage qui ne marche pas dans le cas des agents pathogènes à ARN. En revanche, avec les échantillons positifs aux plasmodiums et trypanosomes, nous pouvons dire qu'il est possible d'identifier ces agents pathogènes à travers un repas sanguin extrait des mouches hématophages. Sur les 428 repas sanguins identifiés, 10% se sont révélés infectés aux plasmodiums et 21% aux trypanosomes. Dans le cas de plasmodium, 6 espèces différentes ont été identifiées comprenant des plasmodiums d'animaux (primates, ongulés, oiseaux) et le plasmodium humain. Aucun plasmodium d'animaux n'a été retrouvé chez l'homme, et le plasmodium humain n'a pas été retrouvé chez les animaux identifiés dans cette étude. Dans le cas des trypanosomes, le trypanosome animal (*T. congolense*) a quelques fois été retrouvé chez l'homme en co-infection avec *T. brucei*. Aussi, *T. brucei* dont la sous-espèce *T. brucei*

*gambiense* infecte les humains en Afrique Centrale est bien représentée dans la faune sauvage. En utilisant les modèles linéaires à effets mixtes, nous observons qu'il n'y a ni effet milieu ni effet saison sur le taux d'infections détectées chez les différents hôtes aussi bien pour les plasmodiums (figure 22a) que pour les trypanosomes (figure 22b).



**Figure 22:** Nombre de plasmodiums (a) et trypanosomes (b) détectés par hôte vertébré selon les parcs et les saisons climatiques. Host1= *Cephalophus silvicultor*; Host2= *Gorilla gorilla*; Host3= *Ciconia sp*; Host4= *Homo sapiens*; Host5= *Syncerus caffer*; Host6= *Tragelaphus eurycerus*; Host7= *Tragelaphus spekii*; Host8= Unknown host; Host9= *Hippopotamus amphibius*; Host10= *Kobus ellipsiprymnus*; Host11= *Mecistops cataphractus*; Host12= *Kinixys erosa*; Host13= *Loxodonta cyclotis*; Host14= *Pelusios chapini*; Host15= *Python sabae*; Host16= *Tragelaphus scriptus*.

En revanche, nous observons que certains repas sanguins dont l'hôte vertébré n'a pas pu être identifié (Host 8), peuvent se révéler infectés aux plasmodiums et aux trypanosomes. Sur 100 repas sanguins pris au hasard et dont les origines hôtes n'ont pas pu être identifiés, 6 sont positifs aux plasmodiums dont 4 *Plasmodium falciparum*, 1 *Plasmodium sp. gorilla clade G1* et 1 *Hepatocystis sp*; et 15 sont positifs aux trypanosomes avec parfois des bi ou multi-infections. Ces résultats pourraient s'expliquer par la sensibilité des différentes méthodes utilisées entre l'identification des hôtes et celles des agents infectieux. Contrairement à l'identification d'hôtes vertébrés, l'identification des agents infectieux s'est faite à l'aide de PCR nichées (deux étapes de PCR). La première étape accroche les fragments d'ADN plus petits, puis la deuxième étape amplifie la suite. Cette méthode permet ainsi l'amplification de l'ADN fragmenté à la suite de la digestion des repas sanguins. Il serait donc idéal de développer une PCR nichée d'identification d'hôtes.

En somme, nous venons de confirmer qu'il est possible d'identifier les hôtes vertébrés à partir des repas sanguins collectés chez les mouches hématophages à l'aide des techniques de biologie moléculaire et montrer par la même occasion qu'il est possible d'identifier les agents pathogènes circulant chez ces hôtes vertébrés à partir de ces même échantillons de repas de sang. Le nombre de repas sanguins collectés dans un milieu est lié à l'effort de capture de mouches hématophages. Plus les captures sont importantes, plus il y a de chances de récolter des repas sanguins identifiables. Cependant, ces captures de mouches hématophages dépendent elles-mêmes de la saison climatique. Elles sont plus importantes en saison sèche par rapport à la saison des pluies. Pour les infections aux plasmodiums, aucun réservoir animal du plasmodium humain n'est soupçonné dans cette étude. Cependant, les humains semblent être infectés aux trypanosomes d'animaux et *vice-versa*. La détection des agents pathogènes ne dépend ni du milieu, ni des saisons climatiques. Cet outil nécessite encore quelques améliorations, notamment avec le développement d'une PCR nichée dans l'identification des hôtes vertébrés. Une fois raffiné, cette technique pourra être utilisée pour détecter en amont des éventuels agents pathogènes dans la faune sauvage. Il aura également un effet positif indirect sur la réduction des populations de vecteurs car, il est bien connu que les captures fréquentes et poussées de mouches hématophages dans un milieu diminuent significativement les densités de populations (Cano et al., 2007).

**VII - DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES -**

---

Notre planète est actuellement confrontée à deux crises majeures, celle de la biodiversité et celle de la santé publique, définies respectivement par le déclin des espèces naturelles et le maintien, la recrudescence, l'émergence ou la réémergence des agents pathogènes. Lorsque nous regardons de près ces deux crises, nous avons l'impression qu'elles sont toutes les deux liées. L'une pourrait être la cause de l'autre, et vice-versa. Les moteurs du déclin de la biodiversité sont directement associés à la pression anthropique, notamment la chasse, la perte d'habitat forestier et leur fragmentation (en lien avec l'urbanisation) et le changement climatique. Par ailleurs, ces activités anthropiques entraînent une proximité étroite entre l'homme et la faune, vraisemblablement à l'origine du maintien et de la recrudescence des maladies parasitaires, et aussi des émergences et réémergences des maladies infectieuses (Patz et al., 2000; 2004; Wolfe et al., 2004; 2005). D'autre part, la perte de la biodiversité liée aux infections pathogènes devient également une préoccupation considérable pour les populations animales et humaines. En effet, les agents infectieux sont omniprésents dans la vie des animaux sauvages (Price, 1980) et pour des raisons évolutives, ils peuvent subitement devenir virulents pour passer d'un hôte à un autre. Ainsi, un animal capturé en forêt par les populations rurales peut être une offrande empoisonnée. C'est ainsi que l'on suppose que certaines épidémies humaines liées au virus Ebola ont démarré en Afrique Centrale, où les populations rurales auraient consommé la viande de primates ou de chauves-souris contaminée. Aussi, la perte de certains carnivores sauvages suite à ces infections réduit fortement la prédation sur des petits mammifères, souvent réservoirs de divers agents infectieux; et augmente ainsi la probabilité de rencontre homme-réservoirs. La crise de la biodiversité est donc au centre des problématiques qui concernent le transfert des zoonoses à l'homme, tout en étant elle-même aggravée par ces agents infectieux. Le maître mot de ces deux crises que traverse actuellement l'humanité serait donc "pathogène zoonotique". Comprendre l'écologie, le fonctionnement et les mécanismes de transmission de ces agents infectieux serait une avancée considérable dans la résolution des crises de la biodiversité et de la santé publique.

La réussite des programmes de conservation de la biodiversité dans le monde dépend fortement de plusieurs facteurs, dont l'aspect socio-économique des populations riveraines des parcs naturels. Au Gabon par exemple, pour apporter sa modeste

contribution à la crise de la biodiversité et à la lutte contre les changements climatiques, l'état a mis en place un réseau de 13 parcs nationaux correspondant à 11% du territoire national. Avec tout ce que nous savons maintenant sur les risques liés à la proximité homme-faune, l'idéal aurait été de laisser ces animaux tranquilles dans ces parcs et de délocaliser les populations locales loin des contacts réguliers avec la faune. Mais la valeur commerciale de certaines espèces animales comme les éléphants pour leur ivoire, les crocodiles pour leurs peaux, certains antilopes et céphalophes ainsi que beaucoup d'autres espèces pour leur viande, est trop forte pour penser qu'il suffit de tracer les parcs pour réussir à conserver ces espèces menacées d'extinction. De plus, la délocalisation de villages entiers paraît très difficile à envisager, aussi bien parce que les populations y ont toute leur histoire sociale et culturelle, mais également parce que les parcs qui occupent déjà 11% du territoire national ont été tracés en tenant compte de la présence préalable de ces populations. Par ailleurs, l'efficacité relative de la protection dans les parcs a généré localement une augmentation des densités de populations animales, notamment des éléphants et des grands singes, produisant des conflits sérieux avec les populations humaines. En effet, les animaux font maintenant des éruptions régulières dans les champs, les cours d'écoles, les villages et sur les routes. Au risque de transmission des agents pathogènes s'ajoute maintenant le conflit lié à la destruction des plantations, des petits potagers et des agressions physiques. La destruction des plantations, les enfants qui ne sont plus en sécurité dans les cours d'écoles ou des villages, tout cet ensemble peut exaspérer les populations rurales et engendrer un dégoût face aux politiques de conservation. Par ailleurs, les autorités en charge de la conservation ne font que faire voter des lois répressives contre le braconnage, en mettant au second plan le conflit social qui oppose ces populations rurales aux animaux menacés d'extinction. Mais toutes ces mesures d'interdiction de chasse n'ont pour conséquence que l'augmentation de la valeur commerciale de ces animaux (ivoires, cornes, peaux et autres) sur les marchés. Nous devons garder à l'esprit que ces populations sont constituées d'anciens chasseurs, capables de braver ces interdictions si certaines filiales illégales venaient à leur faire des propositions considérables sur l'achat d'ivoires ou autres accessoires de faune sauvage. La réussite des politiques de conservation passe donc nécessairement par le développement des programmes de recherche et d'écotourisme dans les parcs, impliquant au maximum les populations locales. Cette implication pourrait atténuer le conflit social et serait un moyen de leur



faire comprendre qu'un animal vivant peut également être une source de revenus, leur permettant de compenser les destructions des plantations. Cependant, les activités de conservation, de recherche et d'écotourisme peuvent voir un effet contrasté. Elles sont dissuasives face au braconnage, mais peuvent tout de même augmenter le contact homme-faune et faciliter les échanges d'agents pathogènes. En Côte d'Ivoire par exemple, une étude montre que les activités de recherche et d'écotourisme ont introduit le virus de la grippe chez les populations de chimpanzés du parc national de Taï (Köndgen et al., 2008). Une autre étude plus ancienne, montrait déjà en Ouganda que les protozoaires *Giardia*, responsables de parasitoses intestinales humaines ont été introduits chez les gorilles de montagne par l'activité d'écotourisme et de conservation (Nizeyi et al., 1999). Inversement, nous savons maintenant que près de 75% de maladies émergentes actuelles à l'homme proviennent de la faune sauvage.

De toutes les voies de transmission (contact, vecteur, proximité, hôte intermédiaire, voie sexuelle et voie verticale) qui existent, la transmission vectorielle est de loin la plus plausible dans les échanges d'agents pathogènes entre les humaines et la faune sauvage (Taylor et al., 2001; Woolhouse et al., 2001; Pedersen et al., 2005). Dans les cas de maladie parasitaires, l'estimation des densités de populations de vecteurs et la compréhension des facteurs écologiques qui gouvernent leurs abondances sont donc d'une importance capitale dans l'évaluation des risques de transmission et le contrôle des zoonoses en milieux naturels. La plupart de ces maladies (THA, paludisme, etc.) n'ayant pas encore de vaccins, la lutte anti-vectorielle adaptée à l'écologie et au comportement des vecteurs reste encore le seul moyen d'éviter les infections. Les mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) sont impliquées dans la transmission biologique et mécanique de la THA. Ces mouches abondent au Gabon, notamment dans les parcs nationaux (Mavoungou et al., 2008a; Zinga et al., 2013), mais très peu d'études ont clairement élucidé la répartition des différentes espèces dans l'ensemble des biotopes. C'est dans ce sens que nous avons étudié les différentes espèces de glossines, stomoxes et tabanides présentes dans les parcs de l'Ivindo et de Moukalaba-Doudou, leur distribution et leurs abondances en fonction des saisons climatiques (Bitome Essono et al., 2015). Six espèces de glossines ont été identifiées, fortement dominées par *Glossina palpalis palpalis*. Ces glossines semblent plus abondantes dans les habitats forestiers, type forêt primaire et camps de recherche situés dans la forêt. Sur le point de vue épidémiologique, ces milieux seraient donc des zones à

risques. La forte présence de *G. palpalis palpalis*, principal vecteur de la maladie du sommeil au Gabon (Kohagne et al., 2010 ; 2011) et le statut d'anciens foyers de THA des provinces de l'Ogooué Ivindo où se trouve le parc de l'Ivindo et l'Ogooué Maritime dont la ville de Gamba est frontalière au parc de Moukalaba-Doudou, peuvent consolider ces inquiétudes. Nous avons également identifié six espèces de stomoxes, dominées par *Stomoxys inornatus* et *S. niger niger*. L'ensemble des stomoxes semble être bien représenté dans les milieux ouverts, types forêt secondaire, savane et villages. Cette répartition des stomoxes dans les milieux ouverts a déjà été rapportée dans une autre étude au Gabon (Mavoungou et al., 2008a). En revanche, les espèces de tabanides identifiées ne semblent pas montrer une préférence écologique claire pour un type de milieu. Cependant, d'autres études ont déjà rapporté l'écologie de quelques genres en Afrique centrale. Le genre *Haematopota* est inféodé à la forêt et aux galeries forestières, *Atylotus* est également inféodé au milieu forestier alors que le genre *Chrysops* est plutôt inféodé aux milieux anthropisés (Itard et al., 1963; Mavoungou et al., 2012). La répartition de ces différentes espèces dans les biotopes prospectés peut dépendre de la disponibilité d'hôtes. Il a souvent été rapporté que les principaux hôtes nourriciers des glossines sont les animaux sauvages, notamment les Bovidae et les Suidae, dont l'écologie est généralement de type forestier. Et les principaux hôtes nourriciers des stomoxes sont des grands mammifères à sang chaud tels que les buffles, vivant généralement dans les milieux ouverts comme les savanes. Alors que le régime alimentaire ambigu des tabanides, dont seules les femelles fécondées sont hématophages, pourrait expliquer leur répartition hétérogène sur l'ensemble des biotopes prospectés. Dans l'ensemble, l'abondance des mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) diffère selon les saisons climatiques. Elles sont plus actives en saison sèche par rapport à la saison des pluies. Cette observation a déjà été rapportée en Côte d'Ivoire par Gouteux et Jarry (1998). Seulement, cela peut paraître un peu absurde. Les pièges visuels dépendent fortement de l'intensité du soleil pour leur attractivité. C'est en saison des pluies que le soleil est plus fort, bien qu'il soit très souvent interrompu par deux à trois pluies orageuses par jour. Ces fortes pluies orageuses perturbent considérablement les captures de mouches hématophages en faisant très souvent tomber les pièges. Alors qu'en saison sèche, bien que le soleil ne soit pas aussi fort, la stabilité des pièges tout au long de la journée augmente la probabilité de capture. Ainsi l'interaction existante entre la saison, le milieu (ouvert ou fermé) et

l'attractivité des pièges reste à analyser plus finement même si cette problématique a été déjà largement abordée (Gouteux et al., 1982; 1997; Gouteux & Jarry, 1998; Bitome Essono et al., 2015). La cohabitation de plusieurs espèces de vecteurs dans un milieu est plutôt rare à observer, mais celle observée dans notre étude n'est pas un cas isolé. La coexistence de plus de cinq espèces de glossines, de plusieurs espèces de stomoxes et de diverses espèces de tabanides a déjà été signalée dans différentes études (Gouteux & Jarry, 1998; Mavoungou et al., 2008a; Mavoungou et al., 2012; Zinga et al., 2013). Plusieurs auteurs ont suggéré que la coexistence de nombreuses espèces hématophages dans un même biotope pouvait être viable dans le cas d'une ségrégation de la niche trophique (Rageau & Adam, 1953; Kaminsky, 1987; Gouteux & Jarry, 1998). Une telle ségrégation peut se faire dans le cas d'une ségrégation temporelle (pic d'activité journalière différent selon les espèces). C'est ce qui a été observé au Libéria où *Glossina palpalis palpalis*, très active entre 11h et 16h, cohabite parfaitement avec *G. tabaniformis* dont l'activité présente un pic au lever du jour et un autre au crépuscule (Kaminsky, 1987). Le même scénario est également observé dans les mangroves non loin de Douala au Cameroun, où *G. p. palpalis* et *G. caliginea* partagent parfaitement leur espace de vie (Rageau & Adam, 1953). Aussi, une telle cohabitation peut réussir lorsque les différents vecteurs ne partagent pas les mêmes tropismes envers les hôtes. Dans le cas contraire, il faudrait que cette ressource soit relativement abondante. L'étude des habitudes alimentaires des espèces de mouches hématophages peut aider à comprendre la réussite de cette cohabitation, et aussi les relations hôtes-vertébrés qui sont nécessaires pour la compréhension des mécanismes de transmission d'agents pathogènes.

La connaissance des principaux hôtes vertébrés des mouches hématophages est une condition préalable pour la réussite des programmes de lutte anti-vectorielle et le contrôle des agents pathogènes. Avec l'amélioration des techniques de biologie moléculaire, ces identifications d'hôtes vertébrés sont de plus en plus précises et fiables. Nous observons dans notre étude que les principaux hôtes nourriciers de mouches hématophages, notamment les glossines, sont des animaux sauvages. Cette observation peut sembler évidente compte tenu de la répartition écologique, principalement forestière de ce groupe taxonomique, mais elle corrobore les résultats de plusieurs autres études du comportement alimentaire des glossines. En effet, différentes études rapportent que les animaux, sauvages ou domestiques, sont les principaux hôtes nourriciers de glossines (Laveissière et al., 1985; Bourzat & Gouteux, 1990; Dagnogo et

al., 1996; Clausen et al., 1998; Kohagne et al., 2010; Muturi et al., 2011). Le même constat est observé pour les espèces de stomoxes (Mavoungou et al., 2008b) et pour plusieurs genres de tabanides (Muzari et al., 2010). Ainsi, les principaux hôtes de glossines seraient les Bovidae et les Suidae sauvages, les reptiles et les animaux domestiques comme le porc, le mouton ou la chèvre. Ceux des stomoxes seraient des gros mammifères à sang chaud comme des buffles, mais aussi des céphalophes et des animaux domestiques comme le porc et les principaux hôtes nourriciers des tabanides seraient les animaux domestiques comme le cheval, la vache et également le porc. Seulement, les tabanides du genre *Chrysops* sont connus pour se nourrir à 80-90% sur l'homme, même si certaines espèces prennent 2-4% de repas sur les rongeurs, 2% sur les hippopotames, de faibles quantités de repas sur les ruminants et varans (Gouteux et al., 1989). Dans l'ensemble, les mouches hématophages semblent se nourrir principalement d'animaux sauvages et domestiques dans le groupe des Arctiodactyles, des Proboscidae et des reptiles, avec, hormis l'homme, un faible tropisme pour les primates. Et c'est seulement en absence de ces animaux dans le milieu que les humains deviennent des cibles privilégiées pour les différentes espèces de mouches hématophages. C'est ce qui explique les forts taux de repas sanguins humains que nous récoltons dans les villages (100%) et dans les camps de recherche (24%), alors que dans la forêt primaire ces repas humains ne représentent que 5.33% des repas récoltés et 5.32% dans la savane. Notre étude conforte ainsi les conclusions issues des nombreuses recherches réalisées en Afrique de l'Ouest et de l'Est qui montrent que le tropisme envers les humains ou les animaux domestiques résultent de la dégradation des habitats naturels et de la raréfaction de la grande faune sauvage (Gibson et al., 1978; Mehlitz, 1986; Dagnogo et al., 1996). Ce résultat devrait attirer plus d'attentions pour les acteurs des programmes de conservation, de recherche et d'écotourisme. La présence animale dans l'ensemble des milieux exploités peut réduire significativement les risques de transmission des agents pathogènes. Si les populations rurales sont impliquées dans les activités liées à la conservation de la biodiversité, elles comprendront que la présence de la faune dans leur environnement de travail doit être aussi considérée comme une protection contre les agents pathogènes. La présence d'animaux pouvant servir d'écran, leur protection dans les parcs peut réduire le nombre de piqûres sur homme et de ce fait les risques de contaminations aux zoonoses. Par la même occasion, nous pourrions également encourager ces populations à la pratique de l'élevage. Même si certaines

espèces domestiques comme le porc sont des réservoirs connus de THA, leur présence et celle d'autres animaux domestiques pourraient réduire le nombre de piqûre sur l'homme qui est de 100% dans les villages. En conditions contrôlées, Dagnogo et ses collaborateurs (1996) montrent que les glossines prennent à 76% leurs repas sanguins sur le porc lorsqu'elles ont le choix entre cet animal domestique et l'homme. Après nous restons également conscients que certaines espèces de glossines opportunistes sur le plan alimentaire comme *Glossina palpalis palpalis* affectionnent particulièrement les repas humains et que la présence de porcs ou autres réservoirs de THA dans les villages pourrait engendrer des épidémies. En revanche, la présence du vecteur et du réservoir n'implique pas systématiquement un risque de transmission d'agents infectieux dans un milieu. Il faut déjà que l'agent pathogène soit présent dans le milieu et même quand il y est, il faut encore que le vecteur soit infectieux. En conditions expérimentales, seules 50% des glossines infectées piquant un hôte, lui transmettent les trypanosomes (Moloo et al., 1986; Dukes et al., 1989; Maudlin & Welburn, 1994). Beaucoup de glossines dont l'intestin moyen est infecté, ne produisent pas assez de parasites matures pour alimenter fréquemment les glandes salivaires, ce qui veut dire qu'elles ne sont pas infectantes. Ceci dit, en prenant un repas de sang sur un hôte sain, certaines mouches hématophages peuvent régurgiter les agents infectieux restés actifs dans le jabot. Ce phénomène est connu sous le nom de transmission retardée. Quoi qu'il en soit, avant de parler d'éventuels risques de transmission de pathogènes, il est judicieux de cribler les mouches hématophages capturées afin de savoir si elles sont infectées et quels pourraient être des éventuels hôtes réservoirs.

La trypanosomiase humaine africaine (THA) est une zoonose avec de nombreux foyers en Afrique sub-saharienne, particulièrement dans les zones rurales où l'infection est surtout liée aux activités telles l'agriculture, la pêche et l'élevage. Au Gabon, cette maladie a autrefois sévit dans la province de l'Estuaire, précisément dans le département du Komo-Mondah à une cinquantaine de kilomètres de la capitale Libreville. Elle a également sévit dans la province de l'Ogooué Ivindo, dans laquelle se trouvent les parcs de l'Ivindo et de la Lopé; et aussi dans la province de l'Ogooué Maritime dont certaines villes sont frontalières du parc de Moukalaba-Doudou. Les quelques campagnes de dépistages menées par le Programme National de Lutte contre la Trypanosomiase (PNLT) révèlent la présence du parasite dans certains anciens foyers, même si les taux d'infections restent relativement faibles (Kohagne et al., 2010; 2011).

Le rôle réservoir que jouent les animaux domestiques, et les animaux sauvages dans le maintien du parasite (Van-Hoof, 1947; Heisch et al., 1958; Gibson et al., 1978; Mehlitz et al., 1982; Herder et al., 2002; Njiokou et al., 2004; 2006) nous intrigue face au développement des activités de conservation, de recherche et d'écotourisme dans ces parcs. Aussi, avec près de 3 millions de morts par an (Volkman et al., 2001), *Plasmodium falciparum* qui est la forme la plus répandue et la plus mortelle du paludisme humain (Greenwood et al., 2005; Snow et al., 2005), est bien présente dans ces différentes régions prospectées. Cette espèce de plasmodium pouvant être hébergée par les primates sauvages (Ollomo et al., 2009; Prugnolle et al., 2010; 2011), nous avons voulu aussi regarder sa présence dans les régions prospectées. Sur 428 échantillons analysés, 88 (21%) ont été révélés positifs aux trypanosomes et 44 (10%) ont été révélés positifs aux plasmodiums. Quatre espèces de trypanosomes ont été identifiées avec des taux d'infections relativement faibles: *T. vivax* (5.61%), *T. congolense* (4.21%), *T. brucei* (4.2%) et *T. simiae* (0.94%). Représentant 28% des infections aux trypanosomes, *T. vivax* est essentiellement retrouvé dans les repas sanguins provenant d'animaux. Cette espèce est très souvent la plus importante des trypanosomes en milieux naturels (Herder et al., 2002; Njiokou et al., 2004). *T. brucei*, qui représente 20% des infections aux trypanosomes, est une espèce dont les sous-espèces infectent aussi bien les animaux que les humains. Nous ne sommes pas en mesure de dire si ces infections (*T. brucei*) correspondent à la sous-espèce *T. brucei brucei* qui infecte les animaux ou à la sous-espèce *T. brucei gambiense* qui infecte les humains en Afrique Centrale, avant de refaire des analyses spécifiques. Mais sur 17 échantillons révélés positifs à *T. brucei*, 8 (47%) sont des repas sanguins provenant d'hôtes humains. Nous avons également mis en évidence quelques multi-infections, dont certains repas sanguins provenant d'hôtes humains se révèlent infectés à *T. brucei* et *T. congolense*. En admettant que l'infection à *T. brucei* se révélera être *T. brucei gambiense* après analyse complémentaire, l'infection au trypanosome animal *T. congolense* dans des repas sanguins humains peut laisser penser à un réservoir humain. En outre, nous avons identifié divers plasmodiums, correspondant aux plasmodiums de Bovidae, humain, de primates sauvages et d'oiseaux: *Hepatocystis sp.* (5.37%), *Plasmodium falciparum* (3.5%), *P. sp. gorilla clade2* (0.7%), *P. sp. gorilla clade1* (0.24%) et *Haemoproteus columbae* (0.24%). De tous les plasmodiums qui infectent l'homme, *Plasmodium falciparum* est de loin le plus mortel. Dans cette étude, il est essentiellement retrouvé chez les humains. De même, aucun plasmodium

animal détecté dans cette étude n'a été retrouvé dans les échantillons de repas sanguins humains. Nous ne sommes donc pas en mesure de parler d'un quelconque réservoir animal de plasmodium humain. Cependant, le taux relativement élevé des infections plasmodiales peut susciter quelques inquiétudes quant aux risques de transmission dans les villages périphériques aux différents parcs prospectés. Sur 64 échantillons de repas sanguins d'origine humaine, 15 (23.5%) sont infectés au *Plasmodium falciparum*. Sachant que les mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) ne sont pas connues à ce jour pour transmettre les plasmodiums, on pourrait penser qu'en utilisant les moustiques vecteurs de cette maladie, ce taux d'infection au plasmodium humain pourrait être plus élevé. En présence de ces moustiques vecteurs, il y a donc lieu de parler de risques de transmission du paludisme dans les régions prospectés.

La méthode que nous utilisons dans cette étude pour identifier les hôtes vertébrés à partir des repas sanguins de mouches hématophages, et d'éventuels agents infectieux pouvant circuler dans les milieux prospectés, résulte des améliorations sans cesse des techniques de biologie moléculaire. L'utilisation des techniques d'échantillonnage non-invasif pour l'identification et le suivi individuel d'animaux sauvages s'est largement développée ces deux dernières décennies. Elle s'est appliquée à divers taxons comme les ours (Wood et al., 1999), les éléphants d'Afrique (Egger et al., 2003), les carnivores (Kohn et al., 1999), les baleines à bosses (Palsboll et al., 1997) et les tortues (Pearse et al., 2001). Jusqu'à récemment, le principe consistait à récupérer des poils, des plumes, des excréments ou autres tissus permettant de prélever de l'ADN (Taberlet et al., 1999). Mais depuis peu, ce sont des repas sanguins d'arthropodes hématophages qui sont utilisés pour l'identification et le suivi de la biodiversité (Kent, 2009; Muturi et al., 2011; Schnell et al., 2012). C'est dans cette dynamique que nous avons tenté d'utiliser les mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) comme des sortes de seringues vivantes pour l'échantillonnage non-invasif des agents infectieux circulant dans la faune sauvage. En effet, la technique semble marcher pour ce qui est des agents infectieux à ADN (plasmodiums et trypanosomes), et un peu moins pour ce qui est des agents infectieux à ARN (arbovirus). Il nous est pour le moment difficile de trancher si c'est la technique qui ne marche pas avec ces agents infectieux à ARN, si ce sont nos échantillons qui n'étaient pas infectés aux arbovirus recherchés, ou c'est le matériel biologique (ARN) qui s'est dégradé lors du transport des échantillons, dans des conditions rudimentaires, de Franceville au Gabon vers Montpellier en France. Quoi qu'il

en soit, nous remarquons que seules les glossines semblent être mieux adaptées à cette méthode, particulièrement les espèces *Glossina palpalis palpalis* et *G. fuscipes fuscipes*. Ces espèces représentent à elles deux près de 41% des mouches hématophages capturées, et sont à l'origine de plus de 73% des repas sanguins identifiés. Leurs habitudes alimentaires sont connues pour être très diversifiées, comprenant les mammifères aquatiques et terrestres, des reptiles et des oiseaux. Cela permet de récolter les repas sanguins d'origines vertébrées diverses, correspondant à une large gamme de réservoirs potentiels. Cependant, les taux d'identification d'hôtes vertébrés et des agents infectieux semblent être liés au nombre de mouches hématophages capturées. Plus l'effort de capture est important, plus ces identifications sont importantes. Avec 75% des maladies émergentes actuelles qui proviennent d'animaux sauvages, la nécessité d'élaborer des nouvelles techniques de détections précoces et de surveillance des agents infectieux est devenue un enjeu majeur (Daszak et al., 2000; Wolfe et al., 2007). C'est dans ce principe que souhaite s'inscrire cet outil d'échantillonnage non-invasif de la faune. Et avec la complexité des agents infectieux multi-hôtes, capables de transiter via plusieurs espèces de vertébrés pour infecter leurs principaux hôtes (Pedersen et al., 2005), cet outil permet une surveillance fréquente de tous les groupes de vertébrés (mammifères, oiseaux et reptiles). Pour cela, il faut considérer que tout hôte vertébré sauvage est susceptible d'être réservoir secondaire, occasionnel et/ou accidentel de n'importe quel agent infectieux connu ou pas dans le milieu. Il faudra donc rechercher tous les agents infectieux possibles dans l'ensemble des repas sanguins sans discrimination d'hôtes vertébrés. Inversement, l'utilisation de cette technique dans ces milieux protégés va avoir un impact sur la réduction des densités de vecteurs. Il est bien connu que les captures fréquentes de mouches hématophages dans un milieu, réduisent significativement les densités de populations (Cano et al., 2007). Réduire les densités de glossines, stomoxes ou tabanides dans les parcs fréquentés par les acteurs de la conservation, les chercheurs et les touristes, serait aussi une avancée majeure dans la réduction de risques de transmission d'agents pathogènes.

Comme aucune œuvre n'est infaillible, cette technique présente également quelques limites dont le principal est l'état digestif des repas sanguins au moment de la capture des mouches hématophages. Un repas sanguin frais est naturellement de couleur rouge, mais au fur et à mesure de sa digestion, sa couleur noircit progressivement. Rien ne permet aujourd'hui de situer jusqu'à quel niveau de noircissement le repas reste



exploitable. Dans notre étude, nous avons récupéré tous les repas sanguins retrouvés et cela pourrait justifier le faible taux (35%) de repas sanguins dont les hôtes vertébrés ont été identifiés sur 1230 repas récoltés. L'idéal serait donc de calibrer, en condition contrôlée, la cinétique de dégradation d'ADN et ARN d'un repas sanguin de mouches hématophages avec son noircissement lié à sa digestion. Aussi, le fait que certains échantillons dont les hôtes vertébrés n'aient pas été identifiés se révèlent positifs aux recherches de plasmodiums ou trypanosomes, peut être lié aux types d'amplifications PCR. La PCR nichée (deux étapes) utilisée pour la recherche de pathogènes permet l'amplification de l'ADN fragmenté, alors que celle utilisée pour l'identification des hôtes n'y arrive pas. L'idéal serait donc de développer également une PCR nichée pour l'identification des hôtes vertébrés. D'autre part, l'absence de repas sanguins provenant de petits singes arboricoles (réservoirs de la fièvre jaune et autres arbovirus) est intrigant d'autant plus que nous les voyons régulièrement non loin de nos pièges. L'absence de ces réservoirs d'arbovirus parmi les hôtes vertébrés que nous identifions peut aussi justifier en partie l'absence des infections à ces agents infectieux. Cependant, nous pouvons penser qu'il existe des espèces de mouches hématophages inféodées à la canopée, qui se nourrissent probablement d'animaux arboricoles et que nous n'aurions pas capturé avec nos pièges fixés au sol. Une telle observation a déjà été rapportée sur les stomoxes au Gabon, où *Stomoxys xanthomelas* semble inféodée à la hauteur et n'abonde qu'à partir de 20-30 mètres du sol (Mavoungou et al., 2007). Les repas de sang analysés sur cette espèce ont révélé une forte proportion de sang de primates fréquentant la canopée. Il serait ainsi également judicieux d'effectuer des captures de mouches hématophages suivant un gradient vertical du sol à la canopée et voir si les espèces identifiées et leurs abondances relatives restent les mêmes. Par ailleurs, la conservation des échantillons de repas sanguins sur le terrain peut s'avérer également très contraignante pour la réussite de cette méthode d'échantillonnage. Dans notre cas, nous avons utilisé du RNA later qui est une solution fixatrice d'acides nucléiques (ADN et ARN). Mais selon les recommandations du fabricant, la fixation de ces acides nucléiques est limitée à moins d'une dizaine de jours à température ambiante. Notre terrain d'étude n'étant pas facile d'accès, nous mettons en moyenne 48h pour accéder à notre zone d'étude du parc de Moukalaba-Doudou par exemple; et également 48h pour en sortir. Pour une campagne d'échantillonnage de 7 jours successifs, les repas sanguins récoltés le premier jour arrivent à la limite de leur conservation lorsque nous quittons le site

d'étude au huitième jour pour arriver au laboratoire 48h plus tard. Cette contrainte de conservation limite considérablement l'effort de collecte et nous oblige quasiment à fragmenter les missions en vue de récupérer le maximum de repas sanguins. Pour pallier cela, il est possible d'utiliser une bombonne d'azote liquide, plus coûteuse, mais elle tient jusqu'à 20 jours consécutifs sur le terrain et conserve les échantillons à des températures avoisinants les  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## VII.2] Conclusions

---

En somme, les mouches hématophages (glossines, stomoxes et tabanides) abondent dans l'ensemble des biotopes prospectés, où plusieurs facteurs écologiques sont réunis pour leurs proliférations. La saison sèche constitue la période de l'année où elles semblent être plus actives, avec de fortes proportions de glossines en milieux ombragés et des densités de stomoxes relativement importantes dans les milieux ouverts. L'étude des habitudes alimentaires de ces mouches hématophages dans les milieux prospectés révèle une forte préférence pour la faune sauvage qui représente 86% des hôtes vertébrés identifiés. Parmi ces hôtes, les Bovidae représentent près de 70% de vertébrés identifiés, constitué de 44% de buffles, 31% d'antilopes Sitatunga et 23% de céphalophes à dos jaune. Si les fortes proportions des deux premiers hôtes résultent de leurs fortes abondances dans les milieux prospectés, les 23% de céphalophes à dos jaune montrent un choix délibéré des glossines vers cette espèce relativement peu abondante dans les parcs du Gabon. Les repas sanguins humains, qui représentent près de 14%, ne sont importants que dans les milieux où la faune est peu présente. C'est donc en absence de faunes que les mouches hématophages, particulièrement les glossines, piquent les humains. L'utilisation des mouches hématophages comme outil d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage montre des résultats encourageants. Le groupe taxonomique des glossines semble être le mieux adapté pour cette technique, leur seule capture suffirait lors de l'utilisation de cette technique d'échantillonnage. Bien qu'il y ait quelques petits ajustements à faire, cet outil peut être utilisé dans la détection et dans la surveillance des agents infectieux d'origines zoonotiques au sein des populations d'animaux sauvages et domestiques. Et pour les acteurs de la conservation, cet outil peut être également utilisé pour les inventaires faunistiques en remplacement des méthodes classiques basées sur l'observation directe et la recherche des empreintes. Ces méthodes d'inventaires d'autrefois sont progressivement abandonnées pour l'utilisation des technologies modernes (drones, caméra-pièges, etc.), afin de réduire l'effort physique lié à la recherche des animaux et les risques d'accidents face aux animaux féroces. Pour les pays du sud dont les institutions de recherches et de conservations disposent de peu de moyens financiers, les drones et les caméra-pièges étant inaccessibles, cet outil se présente comme une solution alternative.

### VII.3] Perspectives

---

Parmi les améliorations à apporter à ce travail, nous souhaitons effectuer une étude contrôlée sur la cinétique de digestion de l'ADN d'hôtes et l'ADN ou ARN des agents infectieux présents dans un repas sanguin de mouches hématophages. En collaboration avec le centre de primatologie (CDP) du centre international de recherches médicales de Franceville (CIRMF), qui dispose de plusieurs espèces de primates, nous allons confectionner des cages à émergence de mouches, puis nous irons ramasser en forêt de la matière organique susceptible de contenir des larves ou des œufs de mouches hématophages. Ces mouches vont ensuite éclore dans les cages à émergence, et seront nourri expérimentalement à l'aide de poches de sang prélevés sur ces animaux. Certains animaux étant infectés aux virus de l'immunodéficience simienne (SIV), nous regarderons déjà la cinétique de détectabilité de l'ADN de l'hôte et ensuite celle de ce virus à ARN dans les repas sanguins. Nous essayerons de prendre en compte le noircissement progressif du repas sanguin sous l'effet de la digestion, histoire d'étalonner sur du papier Wattman une certaine évolution de la couleur d'un repas sanguin avec la dégradation des acides nucléiques d'hôtes et des agents infectieux. Dans le même temps, nous essayerons de mettre en place une PCR nichée, plus sensible que la PCR classique, pour l'identification des hôtes vertébrés. Cette PCR aura pour principal objectif d'augmenter les taux d'identifications d'hôtes vertébrés à partir des repas sanguins collectés sur les mouches hématophages.

Une fois la méthode calibrée, nous souhaitons retourner sur le terrain en vue d'effectuer des captures suivant un gradient vertical. Même si nous avons identifié quelques repas sanguins provenant d'oiseaux dans notre étude, l'absence de mammifères arboricoles (singes, écureuils, etc.) nous laisse quand même perplexe quant aux captures de toutes les espèces de mouches hématophages de ces milieux avec des pièges fixés au sol. C'est pour tenter de pallier cela que nous souhaitons effectuer des captures stratifiées du sol vers la canopée et voir si les espèces et leurs abondances relatives restent les même à différents strates; mais aussi leurs hôtes nourriciers. Ce sont ces résultats qui nous permettront de conclure sur le véritable régime alimentaire de chaque groupe taxonomique (glossines, stomoxes et tabanides), et de chacune de leurs espèces dans les environnements prospectés. Enfin, nous allons mieux expérimenter notre piège-humain

pour tenter de quantifier le risque réel de transmission de pathogènes encouru par les humains dans ces parcs nationaux, naturellement riches en hôtes sauvages.

**- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES -**

---

## VIII] Références bibliographiques

---

- AbuBakar, S., Chang, L. Y., Ali, A. R. M., Sharifah, S. H., Yusoff, K., Zamrod, Z. (2004). Isolation and molecular identification of Nipah virus from pigs. *Emerging Infectious Diseases*, 10: 2228-2230.
- Adams, H. R., Sleeman, J., Rwego, I., New, J. C. (2001). Self-reported medical history survey of humans as a measure of health risks to chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) of kibale National Park. *Oryx*, 35: 308-312.
- Acapovi, G., Yao, Y., N'goran, E., Dia, M. L., Desquesnes, M. (2001). Abondance relative des tabanidés dans la région des savanes de Côte d'Ivoire. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 54: 974-980.
- Aksoy, S. (2003). Control of tsetse flies and trypanosomes using molecular genetics. *Veterinary Parasitology*, 115: 125-145.
- Allsopp, R., Baldry, D. A. T., Rodrigues, C. (1979). The influence of game animals on the distribution and feeding habits of *Glossina pallidipes* in the Lambwe Valley. *Bulletin of the World Health Organization*, 47: 795.
- Amsler, S., Filledier, J. (1994). Attractivité pour les Tabanidae de l'association méta-crésol/octénol. Résultats obtenus au Burkina Faso. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 47: 93-96.
- Anderson, R. M., May, R. M. (1991). *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*. Oxford Science Publications, Oxford.
- Anderson, R. M., May, R. M. (1992). *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*. Oxford University Press, New York.
- Andreeva, V. R. (1982). On ecologo-morphological typing of tabanid larvae (Diptera, Tabanidae). *Entomological Review*, 64: 49-54.
- Andreeva, V. R., Kilic, A. Y., Altunsoy, F. (2009). New contribution to information about tabanidae (Diptera) adult and larvae from West Anatolia. *Journal of the Entomological Research Society*, 11: 19-30.
- Aramburu-Guarda, J., Ramal-Asayag, C., Witzig, R. (1999). Malaria reemergence in the Peruvian Amazon region. *Emerging Infectious Diseases*, 5: 209-215.
- Bailey, D. L., Whitfield, T. L., Smittle, B. J. (1979). Flight and dispersal of the stable fly. *Journal of Economic Entomology*, 66: 410-411.
- Baize, S., Pannetier, D., Oestereich, L., Reiger, T., Koivogui, L. et al. (2014). Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea-preliminary report. *The New England Journal of Medicine*, doi.10.1056/NEJMoa1404505.

- Balashov, Y. (1984). Interaction between blood-sucking arthropods and their hosts, and its influence on vector potential. *Annual Review Entomology*, 29: 137-56.
- Baldacchino, F., Cadier, J., Porciani, A., Buatois, B., Dormont, L., Jay-Robert, P. (2013c). Behavioural and electrophysiological responses of females of two species of tabanid to volatiles in urine of different mammals. *Medical and Veterinary Entomology*, 27: 77-85.
- Baldacchino, F., Desquesnes, M., Mihok, S., Foil, L. D., Duvallet, G., Jiltapalapong, S. (2014). Tabanids: Neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection Genetics and Evolution*, 43: 3-29.
- Baldacchino, F., Gardès, L., De Stordeur, E., Jay-Robert, P., Garros, C. (2013b). Blood-feeding patterns of horse flies in the French Pyrenees. *Veterinary Parasitology*, 199: 283-288.
- Baldacchino, F., Manon, S., Puech, L., Buatois, B., Dormont, L., Jay-Robert, P. (2013d). Olfactory and behavioural responses of tabanid horseflies to octenol, phenols and aged horse urine. *Medical and Veterinary Entomology*, 104: 1-11.
- Baldacchino, F., Muenworn, V., Desquesnes, M., Desoli F., Charoenviriyaphap T., Duvallet G. (2013a). Transmission of pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera: Muscidae): a review. *Parasite*, 20, 26.
- Baldet, T., Mathieu, B., Delécolle, J. C., Gerbier, G., Roger, F. (2005). Emergence de la fièvre catarrhale ovine dans le Bassin méditerranéen et surveillance entomologique en France. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 58 (3): 125-132.
- Barbazan, P., Thitithanyanont, A., Missé, D., Dubot, A., Bosc, P. et al. (2008). Detection of H5N1 avian influenza virus from mosquitoes collected in an infected poultry farm in Thailand. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 8: 105-110.
- Barros, A. M. (2001). Seasonality and relative abundance of Tabanidae (Diptera) captured on horses in the Pantanal, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 917-923.
- Barros, A. T. M., Foil, L. D. (2007). The influence of distance on movement of tabanids (Diptera: Tabanidae) between horses. *Veterinary Parasitology*, 144: 380-384.
- Bataille, A., Fournié, G., Cruz, M., Cedeño, V., Parker, P. G. et al. (2012). Host selection and parasite infection in *Aedes taeniorhynchus*, endemic disease vector in the Galápagos Islands. *Infection, Genetics and Evolution*, 12: 1831-1841.
- Bausch, D. G., Schwarz, L. (2014). Outbreak of Ebola virus disease in Guinea: where ecology meets economy. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8: e3056. doi: 10.1371/journal.pntd.0003056.



- Begon, M. (2008). In *Infectious Disease Ecology: Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems* (eds Ostfeld, R., Keesing, F. & Eviner, V.). *Princeton University Press*, 12–29.
- Bergman, D. K. (1996). Mouthparts and feeding mechanisms of haematophagous arthropods. In S.K.Wikel, (ed.), *The Immunology of Host-Ectoparasitic Arthropod Relationships*. Wallingford: *CAB International*, 30-61.
- Bermejo, M., Rodriguez-Teijeiro, J. D., Illera, G., Barroso, A., Vilà, C., Walsh, P. D. (2006). Ebola outbreak killed 5000 gorillas. *Science*, 314: 1564-1564.
- Berry, I. L., Campbell, J. B. (1985). Time and weather effects on daily feeding patterns of stable flies (Diptera : Muscidae). *Environmental Entomology*, 14: 336-342.
- Biou, C. F., Teko-Agbo, A., Faure, P., Abiola, F. A. (2002). Le marché des médicaments vétérinaires en Afrique de l'Ouest: particularités et réglementations. *Animalis*, 1 (3): 1-6.
- Binder, S., Levit, A. M., Sacks, J. J., Hughes, J. M. (1999). Emerging infectious diseases: Public health issues for the 21st century. *Science*, 284: 1311-1313.
- Bishopp, F. C. (1913). The stable fly (*Stomoxys calcitrans* L.), an important live-stock pest. *Journal of Economic Entomology*, 6: 112-126.
- Bitome Essono, P. Y., Dechaume-Moncharmont, F. X., Mavoungou, J., Obiang Mba, R., Duvallet, G., Bretagnolle, F. (2015). Distribution and abundance of hematophagous flies (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae) in two national parks of Gabon. *Parasite*, 22: 23.
- Bitter, W. H. G., Kieft, R., Borst, P. (1998). The role of transferin-receptor variation in the host range of *Trypanosoma brucei*. *Nature*, 391: 499-502.
- Blackwell, A., Mordue, A. J., Mordue, W. (1994). Identification of bloodmeals of the Scottish biting midge, *Culicoides impunctatus*, by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Medical and Veterinary Entomology*, 8: 20-24.
- Boakye, 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.
- Boccolini, D., Toma, L., Di Luca, M., Severini, F., Cocchi, M., Bella, A., Massa, A. et al. (2012). Impact of environmental changes and human-related factors on the potential malaria vector, *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae), in Maremma, Central Italy. *Journal of Medical Entomology*, 49 (4): 833-842.

- Bongiorno, G., Habluetzel, A., Houry, C., Maroli, M. (2003). Host preferences of phlebotomine sandflies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Tropica*, 88: 109-116.
- Bourzat, D., Gouteux, J. P. (1990). Données préliminaires sur le contact glossines-petits ruminants dans le massif forestier de Mayombe, Congo. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 43 (2): 199-206.
- Bouvier, G. (1952). Notes sur les Tabanidés de la région de Campinas (Estado S. Paulo), Brésil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Rio de Janeiro*, 50: 581-596.
- Bouyer, J., Balenghien, T., Ravel, S., Vial, L., Sidibé, I., Thévenon, S., Solano, P., De-Meeû, T. (2009). Population sizes and dispersal pattern of tsetse flies: rolling on the river? *Molecular Ecology*, 18: 2787-2797.
- Bouyer, J., Pruvot, M., Bengaly, Z., Guerin, P. M., Lancelot, R. (2007). Learning influences host choice in tsetse. *Biology Letters*, 3: 113-116.
- Briand, S., Bertherat, E., Cox, P., Formenty, P., Kieny, M. P. et al. (2014). The international Ebola emergency. *The New England Journal of Medicine*, doi:10.1056/NEJMp1409858.
- Bruce, W. N., Decker, G. C. (1958). The relationship of stable fly to milk production in dairy cattle. *Journal of Economic Entomology*, 51 (3): 269-275.
- Budd, L. T. (1999). DFID-Funded Tsetse and Trypanosomiasis Research and Development since 1980 (V. 2. Economic Analysis). London: *Department for International Development*.
- Butchart, S.H., Walpole, M., Collen, B., Van-Strien, A. et al. (2010). Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, 328: 1164-8.
- Bursell, E., Taylor, P. (1980). An energy budget for *Glossina* (Diptera: Glossinidae). *Bulletin of Entomological Research*, 70: 187-196.
- Buxton, P. A. (1955). The natural history of tsetse flies. An account of the biology of the genus *Glossina* (Diptera). *Memory of London School of Hygiene & Tropical Medicine*. N° 10, H.K. Lewis, London.
- Campbell, J. B., White, R. G., Wright, J. E., Crookshank R., Clanton, D. C. (1977). Effects of stable flies (Diptera-Muscidae) on weight gains and free-efficiency of calves on growing and finishing rations. *Journal of Economic Entomology*, 70: 592-594.
- Cano, J., Descalzo, M. A., Ndong-Mebale, N., Ndong-Asumu, P., Bobuakasi, L., Buatiché, J. N., Nzambo-Ondo, S., Ondo-Esono, M., Benito, A., Roche, J. (2007). Predicted distribution and movement of *Glossina palpalis palpalis* (Diptera: Glossinidae) in

- the wet and dry season in the Kogo trypanosomiasis focus (Equatorial Guinea). *Journal of Vector Ecology*, 32: 218-225.
- Carn, V. M. (1996). The role of dipterous insects in the mechanical transmission of animal viruses. *British Veterinary Journal*, 152: 377-393.
- CDC. 2003. West Nile virus <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index.htm>. Accessed on 12/8/2003.
- Challier, A. (1971). Enquête sur les glossines des régions de Kossou, Tiébissou, Béoumi et San Pedro, en République de Côte d'Ivoire, du 16 au 31 août 1971. Rapport OCCGE-Centre Muraz, No. 261/ENT. 71.
- Challier, A. (1982). The ecology of tsetse, *Glossina* spp. (Diptera, Glossinidae). *Insect Science Application*, 3: 97-143.
- Challier, A., Gouteux, J. P. (1980). Ecology and epidemiological importance of *Glossina palpalis* in the Ivory Coast forest zone. *Insect Science and its Application*, 1: 77-83.
- Chan, M. (2014). Ebola virus disease in West Africa - no early end to the outbreak. *The New England Journal of Medicine*, doi: 10.156/NEJMp1409859.
- Chantal, J. (1997). Actualités de l'Anthrax ou fièvre charbonneuse. *Médecine Tropicale*, 57: 52-60.
- Chapman, C. A., Peres, C. A. (2001). Primate conservation in the new millennium: the role of scientists. *Evolutionary Anthropology*, 10: 16-33.
- Chardonnet, P., Des-Clers, B., Fischer, J., Gerhold, R., Jori, F., Lamarque, F. (2002). The value of wildlife. *Revue Scientifique et Technique*, 21: 15-51.
- Charlwood, J. D., Sama S. (1996). The age structure, biting cycle and dispersal of *Stomoxys niger* Macquart (Diptera: Muscidae) from Ifakara, Tanzania. *African Entomology*, 4: 274-277.
- Chowell, G., Hengartner, N. W., Castillo-Chavez, C., Fenimore, P. W., Hyman, J. M. (2004). The basic reproductive number of Ebola and the effects of public health measures: the cases of Congo and Uganda. *Journal of Theoretical Biology*, 229: 119-126.
- Chvála, M., Lynborg, L., Moucha, J. (1972). The horse flies of Europe (Diptera, Tabanidae). Entomological Society of Copenhagen, *Copenhagen*: 498 pp.
- Clauden, P. H., Adeyemi, B., Bauer, B., Breloer, M., Salchow, F., Staak, C. (1998). Host-preferences of tsetse (Diptera: Glossinidae) based on bloodmeal identifications. *Medical and Veterinary Entomology*, 12: 169-180.
- Cockerell, T. D. A. (1918). New species of North American fossil beetles, cockroaches and tsetse flies. *Proceedings of the United National Museum*, 54: 301-11.

- Collinet, J., Forget, A. (1976). Carte pédologique de reconnaissance. Feuille Booué nord - Mitzic sud. *O.R.S.T.O.M.* Note explicative, 63: 159 pp.
- Colman, R. W. (2001). *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. London: Lippincott, Williams and Wilkins.
- Coscarón, S., Philip, C. B. (1979). A revision of Mycteromyiini ("genus *Mycteromyia*" of authors), a new tribe of Neotropical horse flies (Diptera: Tabanidae). *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 41: 427-452.
- Courtin, F., Rayaissé, J. B., Tamboura, I., Serdébéogo, O., Koudougou, Z., Solano, P. et al. (2010). Updating the northern tsetse limit in Burkina Faso (1949-2009): impact of global change. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7: 1708-1719.
- Cuisance, D. 2001. Cours de certificat d'études approfondies vétérinaires en Pathologies tropicales sur les glossines et les trypanosomoses. CIRAD-EMVT, Montpellier, France : 102 p.
- Dagnogo, M., Lohuirignon, K., Gouteux, J. P. (1985). Comportement alimentaire des populations péridomestiques de *Glossina palpalis* (Robineau-Desvoidy) et *Glossina tachinoides* Westwood du domaine guinéen de Côte d'Ivoire. *Cahier de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 23: 3-8.
- Dagnogo, M., Traoré, G., Koné, M. (1996). Evaluation de l'attractivité de *Glossina palpalis palpalis* vis-à-vis de l'homme et du porc dans la région de Daloa en Côte d'Ivoire. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 49 (1): 50-54.
- D'Amico, F., Goutreux, J. P., Le Gall, F., Cuisance, D. (1996). Are stable flies (Diptera: Stomoxyinae) vectors of *Trypanosoma vivax* in the Central African Republic? *Veterinary Research*, 27: 161-170.
- Daszak, P., Berger, L., Cunningham, A. A., Hyatt, A. D., Green, D. E., Speare, R. (1999). Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging Infectious Disease*, 5: 735-748.
- Daszak, P., Cunningham, A. A., Hyatt, A. D. (2001). Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica*, 78: 103-116.
- Daszak, P., Cunningham, A. A., Hyatt, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife-Threats to biodiversity and human health. *Sciences*, 287: 443-449.
- Daszak, P., Tabor, G. M., Kilpatrick, A. M., Epstein, J., Plowright, R. (2004). Conservation medicine and a new agenda for emerging diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1026: 1-11.

- De Carvalho, C. J. B., Couri, M. S., Pont, A. C., Pamplona, D. M., Lopes, S. M. (2005). A catalogue of the Muscidae (Diptera) of the Neotropical region. *Zootaxa*, 860: 1-282.
- De La Fuente, J., Naranjo, V., Ruiz-Fons, F., Höfle, U., Fernandez De Mera, I. G. et al. (2005). Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 5: 390-401.
- Desquesnes, M. (2004). Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America. OIE, Paris.
- Desquesnes, M., Biteau-Coroller, F., Bouyer, J., Dia, M. L., Foil, L. (2009). Development of a mathematical model for mechanical transmission of trypanosomes and other pathogens of cattle transmitted by tabanids. *International Journal for Parasitology*, 39: 333-346.
- Desquesnes, M., Davila, A. M. (2002). Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Veterinary Parasitology*, 109: 213-231.
- Desquesnes, M., Dia, M. L. (2003). Mechanical transmission of *Trypanosoma congolense* in cattle by the African tabanide *Atylotus agrestis*. *Experimental Parasitology*, 105: 226-231.
- Desquesnes, M., Dia, M. L. (2004). Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanide *Atylotus fuscipes*. *Veterinary Parasitology*, 119: 9-19.
- Dougherty, C. T., Knapp, F. W., Burrus, P. B., Willis, D. C., Cornelius, P. L. (1995). Behaviour of grazing cattle exposed to small populations of stable flies (*Stomoxys calcitrans* L.). *Applied Animal Behaviour Sciences*, 42: 231-248.
- Dukes, P., Kaukas, A., Hudson, K. M., Asonganyi, T., Gashumba, J. K. (1989). A new method for isolating *Trypanosoma brucei gambiense* from sleeping sickness patients. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83: 636-639.
- Dupuy, B., Gérard, C., Nasi, R., Maître, H. F. (1998). Gestion des écosystèmes forestiers denses d'Afrique tropicale, CIRAD-Forêt : 212 pp.
- Egri, Á., Blahó, M., Sándor, A., Kriska, G., Gyurkovszky, M. et al. (2012). New kind of polarotaxis governed by degree of polarization: attraction of tabanide flies to differently polarizing host animals and water surfaces. *Naturwissenschaften*, 99: 407-416.
- Eigen, M., Kloft, W.J., Brandner, G. (2002). Transferability of HIV by arthropods supports the hypothesis about transmission of the virus from apes to man. *Naturwissenschaften*, 89 (4): 185-186.

- Eggert, L. S., Eggert, J. A., Woodruff, D. S. (2003). Estimation population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. *Molecular Ecology*, 12: 1389-1402.
- Emmerson, K. C., Kim, K. C., Price, R. D. (1973). Lice. In R.J. Flynn (ed.), *Parasites of Laboratory Animals*. Ames, Iowa: Iowa State University Press.
- Engel, G. A., Jones-Engel, L., Schillaci, M. A., Suarayana, K. G., Putra, A., Fuentes, A., Henkel, R. (2002). Human exposure to herpesvirus B-seropositive macaque, Bali, Indonesia. *Emerging Infectious Diseases*, 8: 789-795.
- Epstein, P. R., Ford, T. E., Colwell, R. R. (1993). Marine ecosystems: emerging diseases as indicators of change. *The Lancet*, 342: 1217-1219.
- Fa, J. E., Juste, J., Delva, J. P., Castroviejo, J. (1995). Impact of market hunting on mammal species in Equatorial-Guinea. *Conservation Biology*, 9: 1107-1115.
- Fa, J. E., Peres, C. A., Meeuwig, J. (2002). Bushmeat exploitation in tropical forests: an intercontinental comparison. *Conservation Biology*, 16: 232-237.
- Faria, N. R., Rambaut, A., Suchard, M. A., Baele, G., Bedford, T. et al. (2014). The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science*, 346: 56.
- Farikou, O., Njiokou, F., Simo, G., Asonganyi, T., Cuny, G., Geiger, A. (2010). Tsetse fly blood meal modification and trypanosome identification in two sleeping sickness foci in the forest of southern Cameroon. *Acta Tropica*, 116: 81-88.
- Fauci, A. S. (2014). Ebola-underscoring the global disparities in health care resources. *The New England Journal of Medicine*, doi: 10.1056/NEJMp1409494.
- Faulde, M. K., Hoffmann, R., Fazilat, K. M., Hoerauf, A. (2007). Malaria reemergence in northern Afghanistan. *Emerging Infectious Diseases*, 13: 1402-1404.
- Feldmann, H., Geisbert, T. W. (2011). Ebola haemorrhagic fever. *Lancet*, 377: 849-862.
- Finelle, P., Itard, J., Yvore, P., Lacotte, T. (1963). Répartition des glossines en R.C.A. Etat actuel des connaissances. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 16: 337-348.
- Foil, L. D. (1983). A mark-recapture method for measuring effects of spatial separation of horses on tabanid (Diptera) movement between hosts. *Journal of Medical Entomology*, 20: 301-305.
- Foil, L. D. (1989). Tabanids as vectors of disease agents. *Parasitology Today*, 5: 88-96.
- Foil, L. D., Gorham, J. (2000). Mechanical transmission of disease agents by arthropods. In: Eldridge, B.F., Edman, J.D. (Eds.), *Medical Entomology*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, pp. 461-514.

- Foil, L. D., Hogsette, J. A. (1994). Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Scientific and Technical Review*, 13: 1125–1158.
- Ford, J. (1970). The geographical distribution of *Glossina*. In the *African Trypanosomiases* (Ed. by Mulligan H. W.). George Allen & Unwin, London: pp. 274-295.
- Ford, J., Katondo, K. M. (1971). Maps of tsetse-flies (*Glossina*); distribution in Africa. Annex to OAU/ISCTRC publ. No. 105.
- Ford, J., Katondo, K. M. (1973). Maps of tsetse-flies (*Glossina*) distribution in Africa, 1973, according to subgeneric groups on scale of 1: 5,000,000 (plus a set of 9 maps in colour). *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, 25: 187.
- Ford, J., Katondo, K. M. (1979). Tsetse distribution maps in Africa. In International Scientific Council for *Trypanosomiasis* Research. Fifteenth Meeting, Banjul, 1977. Organization of African Unity/Scientific and Technical Research Commission, p. 335.
- Formenty, P., Boesch, C., Wyers, M., Steiner, C., Donati, F. et al. (1999). Ebola virus outbreak among wild chimpanzees living in rain forest of Côte d'Ivoire. *Journal of Infectious Diseases*, 179: S120-S126.
- Formenty, P., Roth, C., Gonzalez-Martin, F., Grein, T., Ryan, M., Drury, P., Kindhauser, M.K., Rodier, G. (2005). Les pathogènes émergents, la veille internationale et le Règlement sanitaire international. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2006. 36(1): 9-15.
- Fowler, C., Hobbs, L. (2003). Is humanity sustainable? *Proceeding of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270: 2579-2583.
- Furuse, Y., Suzuki, A., Oshitani, H. (2010). Origin of measles virus: divergence from rinderpest virus between the 11<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> centuries. *Virology Journal*, 7: 52.
- Georges-Courbot, M. C., Sanchez, A., Lu, C. Y., Baize, S., Leroy, E. et al. (1997). Isolation and phylogenetic characterization of Ebola viruses causing different outbreaks in Gabon. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 3: 59-62.
- Gibbs, E. P. (1973). Experimental studies of the epidemiology of bovine herpes mammillitis. *Research in Veterinary Science*, 14: 139-144.
- Gibbs, E. P., Johnson, R. H., Osborne, A. D. (1972). Field observations on the epidemiology of bovine herpes mammillitis. *Veterinary Record*, 91: 395-401.
- Gibbs, E. P., Johnson, R. H., Gatehouse, A. G. (1973). A laboratory technique for studying the mechanical transmission of bovine herpes mammillitis virus by the stable fly (*Stomoxys calcitrans* L.). *Research in Veterinary Science*, 14: 145-147.

- Gibson, W., Mehlitz, D., Codfrey, D. G. (1978). The identification of *Trypanosoma brucei gambiense* in Liberian pigs and dogs by isoenzymes and by resistance to human plasma. *Tropical Medicine and Parasitology*, 29: 335-345.
- Gilles, J., David, J. F., Duvallet, G., De la Rocque, S., Tillard, E. (2007). Efficiency of traps for *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* on Reunion Island. *Medical and Veterinary Entomology*, 21: 65-9.
- Glasgow, J. P. (1970). The *Glossina* community. In the African Trypanosomiases (Ed. by Mulligan H.W). George Allen & Unwin, London: pp. 348-381.
- Gouteux, J. P. (1983). Ecologie des glossines en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. 7. Analyse de la distribution spatiale des glossines en activité dans une plantation de caféiers. *Cahier de l'ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 21: 231-239.
- Gouteux, J. P. (1991). La raréfaction de tsétsé du groupe *fusca* en Afrique Centrale (Diptera, Glossinidae). *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 96 (5): 443-449.
- Gouteux, J. P., Bois, J. F., Laveissière, C., Couret, D., Mustapha, A. (1984). Ecologie des glossines en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. 9. Les lieux de repos. *Cahier de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 22: 159-174.
- Gouteux, J. P., Bois, J. F., Laveissière, C., Couret, D., Mustapha, A. (1984). Ecologie des glossines en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. 9. Les lieux de repos. *Cahier de l'ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 22: 159-174.
- Gouteux, J. P., D'Amico, F., Cuisance, D., Blanc, F., Demba, D., Staak, C., Clausen, P. H., Kota-Guinza, A., Le-Gall, F. (1994). Les hôtes de *Glossina fuscipes fuscipes* Newstead, 1910 (Diptera: Glossinidae) dans 2 zones d'élevage de la République Centrafricaine. *Veterinary Research*, 25: 16-28.
- Gouteux, J. P., Dongo, P., Coulibaly, D. (1982). Observations sur les glossines d'un foyer forestier de trypanosomiase humaine en Côte d'Ivoire. 3. Dispersion et distribution des populations autour d'un village. *Tropical Medicine and Parasitology*, 33: 119-128.
- Gouteux, J. P., Jarry, M. (1998). Tsetse flies, biodiversity and the control of sleeping sickness. Structure of a *Glossina* guild in southwest Côte d'Ivoire. *Acta Oecologica*, 19: 453-471.
- Gouteux, J. P., Jarry, M., Wagner, C. (1997). Etude de la structure spatiotemporelle d'un peuplement de *Glossina palpalis*, *G. pallicera* et *G. nigrofusca* (Diptera: Glossinidae) à l'aide de l'analyse triadique en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. *Journal of African Zoology*, 111: 121-136.



- Gouteux, J. P., Lacien, J. (1986). Le piège pyramidal à tsétsé (Diptera: Glossinidae) pour la capture et la lutte. Essai comparatifs et description de nouveaux systèmes de captures. *Tropical Medicine and Parasitology*, 37: 61-66.
- Gouteux, J. P., Laveissiere, C. (1982). Ecologie des glossines en secteur pré-forestier de Côte d'Ivoire. 4. Dynamique de l'écodistribution en terroir villageois. *Cahier de l'ORSTOM: Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 20: 199-229.
- Gouteux, J. P., Noireau, F., Staak, C. (1989). The host preferences of *Chrysops silacea* and *C. dimidiata* (Diptera: Tabanidae) in an endemic area of *Loa Loa* in the Congo. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 2: 167-172.
- Green, C. H. (1994). Bait methods for tsetse fly control. *Advances in Parasitology*, 34: 229-291.
- Greenwood, B. M., Bojang, K., Whitty, C. J., Targett, G. A. (2005). Malaria. *Lancet*, 365: 1487-1498.
- Guan, Y., Zheng, B. J., He, Y. Q. et al. (2003). Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in Southern China. *Science*, 302: 276-278.
- Gubler, D. J. (1998). Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerging Infectious Diseases*, 4: 442-450.
- Guernier, V., Hochberg, M. E., Guegan, J. F. O. (2004). Ecology drives the worldwide distribution of human diseases. *PLoS Biology*, 2: 740-746.
- Hafez, M., Gamal-Eddin, F. M. (1959). On the feeding habits of *Stomoxys calcitrans* L. and *sitiens* Rond, with special reference to their biting cycle in nature. *Bulletin de la Société d'Entomologie d'Egypte*, 43: 291-301.
- Hahn, B. H., Shaw, G. M., De-Cock, K. M., Sharp, P. M. (1998). AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science*, 287: 607-614.
- Haouas, N., Passon, B., Boudabous, R., Dedet, J. P., Babba, H., Ravel, C. (2007). Development of a molecular tool for the identification of *Leishmania* reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vector. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 1054-1059.
- Harley, J. M. B. (1965). Seasonal abundance and diurnal variations in activity of some *Stomoxys* and Tabanidae in Uganda. *Bulletin of Entomological Research*, 56: 319-332.
- Harris, R. H. T. P. (1930). Report on the bionomics of the tsetse fly (*Glossina pallidipes*), and a preliminary report of a new method of control, presented by the provincial administration of Natal. *Pietermaritzburg*, 75pp.

- Harvell, C. D., Kim, K., Burkholder, J. M., Colwell, R. R., Epstein, P. R. et al. (1999). Emerging marine diseases, climate links and anthropogenic factor. *Science*, 285: 1505-1510.
- Heisch, R. B., McMahon, J. P., Manson-Bahr, P. E. C. (1985). The isolation of *Trypanosoma rhodesiense* from a bushbuck. *British Medical Journal*, 2: 1203-1204.
- Herder, S., Simo, G., Nkini, S., Njiokou, F. (2002). Identification of trypanosomes in wild animals from southern Cameroon using the polymerase chain reaction (PCR). *Parasite*, 9: 345-349.
- Hoare, C. A. (1972). The trypanosomes of mammals, a zoonological monograph. Blackwell Scientific Publications: Oxford.
- Hoch, A. L., Gargan, T. P., Bailay, C. L. (1985). Mechanical transmission of Rift Valley fever virus by hematophagous Diptera. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34 (1): 188-193.
- Hocking, B. (1971). Blood-sucking behaviour of terrestrial arthropods. *Annual Review Entomology*, 16: 1-26.
- Hogsette, J. A., Ruff, J. P., Jones, C. J. (1987). Stable fly biology and control in the northwest Florida. *Journal of Agricultural Entomology*, 4: 1-11.
- Hogsette, J. A., Ruff, J.P., McGowan, M. J. (1981). Stable fly integrated pest management (IPM) in Northwest Florida. *Journal of the Florida Anti-Mosquito Association*, 52: 48-52.
- Hoppenheit, A., Bauer, B., Steuber, S., Terhalle, W., Diall, O., Zessin, K. H., Clausen, P. H. (2013). Multiple host feeding in *Glossina palpalis gambiense* and *Glossina tachinoides* in southeast Mali. *Medical and Veterinary Entomology*, 27: 222-225.
- Horváth, G., Majer, J., Horváth, L., Szivák, I., Kriska, G. (2008). Ventral polarization vision in tabanids: horseflies and deerflies (Diptera: Tabanidae) are attracted to horizontally polarized light. *Naturwissenschaften*, 95: 1093-1100.
- Humphrey-Smith, I., Chastel, C. (1988). Potential for mechanical transmission of human immunodeficiency virus but the hut tampan, *Ornithodoros moubata*. *The Medical Journal of Australia*, 149: 505-506.
- Humphrey-Smith, I., Donker, G., Turzo, A., Chastel, C., Schmidt-Mayerova, H. (1993). Evaluation of mechanical transmission of HIV by the African soft tick, *Ornithodoros moubata*. *AIDS*, 7: 341-347.
- Hunter, F. F., Bayly, R. (1991). ELISA for identification of blood meal source in black flies (Diptera: Simuliidae). *Journal of Medical Entomology*, 28: 527-532.
- Huq, M. (1961). African horse sickness. *Veterinary Record*, 73: 123.

- Hursey, B. S. (2001). The program against African trypanosomiasis: aims, objectives and achievements. *Trends in Parasitology*, 17: 2-3.
- Issel, C. J., Foil, L. D. (1984). Studies on equine infectious anemia virus transmission by insects. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184: 293.
- Issel, C., Rushlow, K., Foil, L. D., Montelaro, R. C. (1988). A perspective on equine infectious anemia with an emphasis on vector transmission and genetic analysis. *Veterinary Microbiology*, 17: 251-286.
- Itard, J. (1986). Les glossines ou mouches tsé-tsé. IEMVT, Maisons Alfort.
- Itard, J. (2000). Trypanosomoses animales africaines. In Chartier, C., Itard, J., Morel, P. C., Troncy, P. M. (eds): Précis de Parasitologie vétérinaire tropicale. Universités francophones, AUPELF-UREF, EM inter, Editions TEC & Doc, Londres-Paris-New York, pp 773.
- Itard, J., Finelle, P., Rickenbach, A. (1963). Contribution à l'étude des Tabanidae (Diptera) d'Afrique Centrale, les Tabanidae de la République Centrafricaine. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 16: 159-173.
- Itard, J., Chartier, P. C., Morel, P. C., Troncy, P. M. (2000). Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Paris, Cachan, technique et documentation, édition *médicale internationale*, 774 pp.
- Jensen, T., Bildt, M. V. D., Dietz, H. H., Andersen, T. H., Hammer, A. S., Kuiken, T., Osterhaus, A. (2002). Another phocine distemper outbreak in Europe. *Science*, 297: 209.
- Johnson, P. T. J., Lund, P., Hartson, R. B., Yoshino, T. (2009). Community diversity reduces *Schistosoma mansoni* transmission and human infection risk. *Proceeding of the Royal Society of London: Biology*, 276: 1657-1663.
- Johnson, P. T. J., Thielges, D. W. (2010). Diversity, decoys and the dilution effect: how ecological communities affect disease risk. *The Journal of Experimental Biology*, 213: 961-970.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451: 990-3.
- Jordan, A. M. (1986). Trypanosomiasis Control and African Rural Development. London: Longman. Volume 357.
- Jordan, A. M., Curtis, C. F. (1968). The performance of *Glossina austeni* when fed on lopeared rabbits and goats. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene*, 62: 123-124.
- Kaminsky, R. (1987). Tsetse ecology in a Liberian rain-forest focus of Gambian sleeping sickness. *Medical and Veterinary Entomology*, 1: 257-264.

- Kangwagye, T. N. (1974). The seasonal incidence of biting flies (Diptera) in Rwenzori National Park and Kigezi Game Reserve, Uganda. *Bulletin of Entomological Research*, 63: 535-549.
- Karesh, W. B., Cook, R. A., Bennett, E. L., Newcomb, J. (2005). Wildlife trade and global disease emergence. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 1000-1002.
- Kasbari, M. (2001). Intérêts et limites de la PCR pour l'étude diagnostique et épidémiologique des trypanosomes animales africaines. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude Bernard Lyon I. pp 34, 36 et 37.
- Kazadi, J. M. L. (2000). Interactions between vector and trypanosome in Determining the vectorial competence of tsetse flies [D. V. Sc. thesis]. University of Liège: Liège (Belgium).
- Kelly, D. W. (2001). Why are some people bitten more than others? *Trends in Parasitology*, 17: 578-81.
- Kennedy, P. G. (2008). The continuing problem of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). *Annal of Neurology*, 64: 116-126.
- Kent, R. J. (2009). Molecular methods for arthropod bloodmeal identification and applications to ecological and vector-born disease studies. *Molecular Ecology Resources*, 9: 4-18.
- Kent, R. J., Thuma, P., Mharakurwa, S., Norris, D. E. (2007). Seasonality, blood-feeding behavior and transmission of *Plasmodium falciparum* by *Anopheles arabiensis* following an extended drought in southern Zambia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76: 267-274.
- Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Jones, M. J., Daszak, P. (2006). West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behaviour. *PloS Biology*, 4: e82.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A. et al. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 86: 6196-6200.
- Kohagne-Tongué, L., Gounoue-Kamkuimo, R., Mengue-M'Eyi, P., Kaba, D., Louis, F. J., Mimpfoundi, R. (2011). Enquête entomologique dans le foyer historique de trypanosomose humaine africaine de Bendjé (Gabon). *Parasite*, 18: 303-309.
- Kohagne-Tongué, L., Mengue-M'Eyi, P., Mimpfoundi, R., Louis, F. J. 2010. Régime alimentaire des glossines et diversité des espèces de trypanosomes dans un foyer actif de trypanosomose humaine africaine au Gabon. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 103: 264-271.

- Kohn, M.H., York, E. C., Kamradt, D. A., Hought, G., Sauvajot, R. M., Wayne, R. (1999). Estimating population size by genotyping faeces. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 266: 657-663.
- Köndgen, S., Köhl, H., N'Goran, P. K., Walsh, P. D., Schenk, S., Ernst, N., Biek, R., Formenty, P., Mätz-Rensing, K., Schweiger, B., Junglen, S., Ellerbrok, H., Nitsche, A., Briese, T., Lipkin, W. I., Pauli, G., Boesch, C., Leendertz, F. H. (2008). Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Current Biology*, 26: 260-264.
- Koné, N., N'goran, E. K., Sidibe, I., Kombassere, A. W., Bouyer, J. (2011). Spatio-temporal distribution of tsetse and other biting flies in the Mouhoun River basin, Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, 25, 156-168.
- Kramer, L. D., Styer, L. M., Ebel, G. D. (2008). A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annual Review of Entomology*, 53: 61-81.
- Krcmar, S. (2005). Seasonal abundance of horse flies (Diptera: Tabanidae) from two locations in eastern Croatia. *Journal of Vector Ecology*, 30: 316-321.
- Krinsky, W. L. (1976). Animal-disease agents transmitted by horse flies and deer flies (Diptera: Tabanidae). *Journal Medical Entomology*, 13: 225-275.
- Kuiken, T., Leighton, F. A., Fouchier, R. A., LeDuc, J. W., Peiris, J. S., Schudel, A., Stohr, K., Osterhaus, A. D. (2005). Public health. Pathogen surveillance in animals. *Science*, 309: 1680-1681.
- Kunz, S. E., Monty, J. (1976). Biology and ecology of *Stomoxys nigra* Macquart and *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae) in Mauritius. *Bulletin of Entomological Research*, 66: 745-755.
- Kunz, S. E., Murell, K. D., Lambert, G., James, L. F., Terill, C. E. (1991). Estimated losses of livestock to pests. In: D. Pimentel (Editor), CRC Handbook of pest management in agriculture. Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL: 69-98 pp.
- Laveissière, C., Couret, D., Staak, C., Hervouët, J. P. (1985). *Glossina palpalis* et ses hôtes en secteur forestier de Côte d'Ivoire. Relation avec l'épidémiologie de la trypanosomose humaine. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 23 : 297-303.
- Laveissière, C., Hervouët J. P. (1981). Population de glossines et occupation de l'espace. Enquête entomologique préliminaire dans la région de la Lobo (Côte-d'Ivoire). *Cahiers ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 19: 247-260.
- Laveissière, C., Grebaut, P. (1990). Recherches sur les pièges à glossines (Diptera : Glossinidae). Mise au point d'un modèle économique : Le piège «Vavoua». *Tropical Medicine and Parasitology*, 41, 185-192.

- Le Sueur, D., Sharp, B. L., Gouws, E., Ngxongo, S. (1996). Malaria in South Africa. *South African Medical Journal*, 86 (8): 936-939.
- Leak, S. G. (1999). Tsetse biology and ecology; their role in the epidemiology and control of trypanosomiasis. OXON: CABI. 568 pp.
- Leclercq, M. (1971). Les mouches nuisibles aux animaux domestiques. Presses agronomiques de Gembloux : 199 pp.
- Lee, J. H., Hassan, H., Hill, G., Cupp, E. W., Higazi, T. G., Mitchell, C. J., Godsey Jr. M. S., Unnasch, T. R. (2002). Identification of mosquito avian-derived blood meals by Polymerase Chain Reaction heteroduplex analysis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 599-604.
- Legrand, J., Grais, R. F., Boelle, P. Y., Valleron, A. J., Flahault, A. (2007). Understanding the dynamics of Ebola epidemics. *Epidemiology and Infection*, 135: 610-621.
- Lehane, M. J. (1976). Digestive enzyme secretion in *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Tissue and Cell*, 170: 275-87.
- Lehane, M. J. (1987). Quantitative evidence for merocrine secretion in an insect midgut cell. *Tissue and Cell*, 19: 451-561.
- Lehane, M. J. (1988). Evidence for secretion by the release of cytoplasmic extrusions from midgut cells of *Stomoxys calcitrans*. *Journal of Insect and Physiology*, 34: 949-53.
- Lemey, P., Pygus, O. G., Rambaut, A., Drummond, A. J., Robertson, D. L., Roques, P., Vandamme, A. M. (2004). The molecular population genetics of HIV-1 group O. *Genetics*, 167 (3), 1059-1068.
- Lemey, P., Pygus, O. G., Wang, B., Saksena, N. K., Salemi, M., Vandamme, A. M. (2003). Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *PNAS*, 100: 6588-6592.
- Leroy, E. M., Kumulungui, B., Pourrut, X., Rouquet, P., Hassanin, A. et al. (2005). Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*, 438: 575-576.
- Leroy, E. M., Rouquet, P., Formenty, P., Souquiere, S., Kilbourne, A., Froment, J. M., Bermejo, M., Smith, S., Karesh, W., Swanepoel, R., Zaki, S. R., Rollin, P. E. (2004). Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science*, 303: 387-390.
- Lessard, B. D., Cameron, S. L., Bayless, K. M., Wiegmann, B. M., Yeates, D. K. (2013). The evolution and biogeography of the austral horse fly tribe Scionini (Diptera: Tabanidae, Pangoniinae) inferred from multiple mitochondrial and nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68: 516-540.

- Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., Epstein, J. H. et al. (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 310: 676-679.
- Lonsdorf, E. V., Travis, D., Pusey, A. E., Goodall, J. (2006). Using retrospective health data from the Gombe chimpanzee study in from future monitoring efforts. *American Journal of Primatology*, 68: 897-908.
- Lopez, A. D., Mathers, C. D., Ezzati, M., Jamison, D. T., Murray, C. J. L. (2006). Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet*, 367: 1747-1757.
- Lysyk, T. J. (1995). Temperature and population density effects on feeding activity of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 32 (4): 508-514.
- Lysyk, T. J. (1998). Relationships between temperature and life-history parameters of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 35: 107-119.
- Macadam, I. (1977). Control of *Dermatophilus congolensis* infection. *Veterinary Record*, 100: 411.
- Machado, A. (1959). Nouvelle contribution à l'étude systématique et biogéographique des glossines (Diptera). *Publcoes cult.Co.Diam. Angola*, 46: 13-90.
- Mackerras, I. M. (1954). The classification and distribution of Tabanidae (Diptera) I. General review. *Australian Journal of Zoology*, 2: 431-454.
- Mackerras, I. M. (1955). The classification and distribution of Tabanidae (Diptera) II. History; morphology; classification; subfamily pangoniinae. *Australian Journal of Zoology*, 3: 439-511.
- Mackerras, I. M. (1971). The Tabanidae (Diptera) of Australia. V.\* Subfamily Tabaninae, Tribe Tabanini. *Australian Journal of Zoology*, 19(4): 1-54.
- Magnarelli, L. A., Anderson, J. F. (1980). Feeding behaviour of Tabanidea (Diptera) on cattle and serologic analyses of partial blood meals. *Environmental Entomology*, 9: 664-667.
- Mans, B. J., Louw, A. I., Neitz, A. W. H. (2002). Evolution of hematophagy in Ticks: Common origins for blood coagulation and platelet aggregation inhibitors from soft Ticks on the genus *Ornithodoros*. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 1695-1705.
- Marshall, A. G. (1981). The Ecology of Ectoparasitic Insects. New York: *Academic Press*.
- Martin, D., Chatelin, Y., Collinet, J., Guichard, E., Sala, G. (1981). Les sols du Gabon. Pédogenèse, répartition et aptitudes. *O.R.S.T.O.M. Note explicative 92* : 66 pp.

- Mathenge, E. M., Misiani, G. O., Oulo, D. O., Irungu, L. W., Ndegwa, P. N., Smith, T. A., Killeen G. F., Knols, B. G. (2005). Comparative performance of the Mbita trap, CDC light trap and the human landing catch in the sampling of *Anopheles arabiensis*, *An. funestus* and culicine species in a rice irrigation in western Kenya. *Malaria Journal*, 4: 7.
- Matthew, L., Woolhouse, M. (2005). New approaches to quantifying the spread on infection. *Nature Review Microbiology*, 3: 529-536.
- Matyas, P. A. (1958). Tabanidae. Extrait Fauna Hungariae, Vol. XVI-Diptera I. Akademiai Kiado Budapes. E. Simonkovich, p.43-74.
- Maudlin, I., Welburn, S. C. (1994). Maturation of trypanosome infection in tsetse. *Experimental Parasitology*, 79: 202-205.
- Mavoungou, J. F., Gilles, J., Duvallet, G. (2007). *Stomoxys xanthomelas* Roubaud, 1937: une espèce de la canopée en Afrique Equatoriale? (Diptera, Muscidae). *Bulletin de la Société entomologique de France*, 112: 481-483.
- Mavoungou, J. F., Jay-Robert, P., Gilles, J., Atsame, E., Duvallet, G. (2008a). Ecology of *Stomoxys* flies (Diptera: Muscidae) in Gabon. First survey in different ecological areas. *Parasite*, 15: 27-34.
- Mavoungou, J. F., Simo, G., Gilles, J., De-Stordeur, E., Duvallet, G. (2008b). Ecologie des stomoxes (Diptera: Muscidae) au Gabon. II. Origine des repas de sang et conséquences épidémiologiques. *Parasite*, 15: 611-615.
- Mavoungou, J. F., Makanga, B., Acapovi-Yao, G. L., Desquesnes, M., M'Batchi, B. (2012). Chorologie des Tabanidae (Diptera) dans la réserve de biosphère Ipassa-Makokou (Gabon) en saison des pluies = Abundance and species diversity of tabanids (Diptera) in the biosphere reserve Ipassa-Makokou (Gabon) during the rainy season. *Parasite*, 19: 165-171.
- Mboera, L. E. G., Takken, W. (1999). Odour-mediated host-preference of *Culex quinquefasciatus* in Tanzania. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, 92: 83-88.
- McElligott, P. E. K., Lewis, D. J. (1998). Seasonal changes in abundance and gonotrophic age of host-seeking Tabanidae (Diptera) from a subarctic Labrador peatland. *Journal of Medical Entomology*, 35: 763-770.
- Mehlitz, D. (1986). Le réservoir animal de la maladie du sommeil à *Trypanosoma brucei gambiense*. Études et Synthèses de 11EMVT. 18. 156 pp.
- Mehlitz, D., Zillmann, U., Scott, C. M., Godfrey, D. G. (1982). Epidemiological studies on the animal reservoir of gambiense sleeping sickness. III. Characterization of Trypanozoon stocks by isoenzymes and sensitivity to human serum. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 33: 113-118.



- Mihok, S. (2002). The development of a multipurpose trap (the Nzi) for tsetse and other biting flies. *Bulletin of Entomological Research*, 92: 385-403.
- Mihok, S., Carlson, D. A., Krafur, E. S., Foil, L. D. (2006). Performance of the Nzi and other traps for biting flies in North America. *Bulletin of Entomological Research*, 96: 387-397.
- Mihok, S., Kang'Ethe, E. K., Kamau, G. K. (1995). Trials of Traps and Attractants for *Stomoxys spp.* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 32: 283-289.
- Miller, R. W., Pickens, L. G., Morgan, N. O., Thimijan, R. W., Wilson, R. L. (1973). Effect of Stable Flies (Diptera: Muscidae) on Feed Intake and Milk-Production of Dairy-Cows. *Journal of Economic Entomology*, 66: 711-713.
- Milligan, P. J. M., Baker, R. D. (1988). A model of tsetse-transmitted animal trypanosomiasis. *Parasitology*, 96: 211-239.
- Mockford, E. L. (1967). Some Psocoptera from the plumage of birds. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 69: 307-9.
- Mockford, E. L. (1971). Psocoptera from the dusky-footed wood rat in southern California (Psocoptera: Atropidae, Psogullidae, Liposcelidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 47: 127-40.
- Mofatt, M. R., Blakemore, D., Lehane, M. J. (1995). Studies on the synthesis and secretion of digestive trypsin in *Stomoxys calcitrans* (Insecta-Diptera). *Comparative Biochemistry and Physiology*, B110B: 291-300.
- Mohr, C. O. (1943). Cattle droppings as ecological units. *Ecological Monographs*, 13: 275.
- Moloo, S. K. (1993). The distribution of *Glossina* species in Africa and their natural hosts. *Insect Science and its Application*, 14: 511-527.
- Moloo, S. K., Asonganyi, T., Jenni, L. (1986). Cyclical development of *Trypanosoma brucei gambiense* from cattle and goats in *Glossina*. *Acta Tropica*, 43: 407-408.
- Molyneux, D. H. (1973). Animal reservoir and gambian trypanosomiasis. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 53: 605-618.
- Monath, T. P. (2001). Yellow fever: an update. *Lancet Infectious Diseases*, 1: 11-20.
- Moore, A., Richer, M. (2001). Re-emergence of epidemic sleeping sickness in southern Sudan. *Tropical Medicine and International Health*, 6: 342-347.
- Moore, S., Shrestha, S., Tomlinson, K. W., Vuong, H. (2012). Predicting the effect of climate change on African trypanosomiasis: integrating epidemiology with parasite and vector biology. *Journal of the Royal Society Interface*, 9: 817-830.

- Morand, S., Krasnov, B. R., Poulin, R. (2006). *Micromammals and macroparasites*. Tokyo, Springer Verlag.
- Morens, D. M., Folkers, G. K., Fauci, A. S. (2004). The challenge of emerging and reemerging infectious diseases. *Nature*, 430: 242-249.
- Morse, S. S. (1995). Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases*, 1: 7-15.
- Moutia, A. (1928). Surra in Mauritius and its principal vector *Stomoxys nigra*. *Bulletin of entomological Research*, 19: 211-216.
- Mukabana, W. R., Takken, W., Knols, B. G. J. (2002b). Analysis of arthropod blood meals using molecular genetic markers. *Trends in Parasitology*, 18, 11.
- Mukabana, W. R., Takken, W., Seda, P., Killeen, G. F., Hawley, W. A., Knols, B. G. J. (2002a) Extent of digestion affects the success of amplifying human DNA from blood meals of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 92: 233-239.
- Mullens, B. A. (2002). Horse flies and deer flies (Tabanidae). In: Mullen G, Durden L. (Eds.), *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press, San Diego, pp. 263-277.
- Mullens, B. A., Gerhardt, R. R. (1979). Feeding behavior of some Tennessee Tabanidae. *Environmental Entomology*, 8: 1047-1051.
- Murphy, F. A. (1998). Emerging zoonoses. *Emerging Infectious Diseases*, 4: 429-435.
- Muturi, C. N., Ouma, J. O., Malele, I., Ngure, R. M., Rutto, J. J., Mithöfer, K. M. et al. (2011). Tracking the feeding patterns of tsetse flies *Glossina* Genus by analysis of bloodmeals using mitochondrial cytochromes genes. *PLoS ONE*, 6: e17284.
- Muzari, M. O., Burgess, G. W., Skerratt, L. F., Jones, R. E., Duran, T. L. (2010). Host preferences of tabanid flies based on identification of blood meals by ELISA. *Veterinary Parasitology*, 174: 191-198.
- Mwangangi, J.M., Mbogo, C. M., Nzovu, J. G., Githure, J. I., Yan, G., Beier, J. C. (2003). Blood-meal analysis for anopheline mosquitoes sampled along the Kenyan coast. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19: 371-375.
- Nash, T. A. M. (1948). *Tsétsé Flies in British West Africa*. (ed. C. office), London: His Majesty's stationary Office, 260p.
- Ndegwa, P. N., Irungu, L. W., Molloo, S. K. (1992). Effect of puparia incubation temperature: increased infection rates of *Trypanosoma congolense* in *Glossina morsitans centralis*, *G. fuscipes fuscipes* and *G. brevipalpis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 6: 127-130.

- Newson, H. D. (1977). Arthropod problems in recreation areas. *Annual Review of Entomology*, 22: 333-353.
- Nih, . (2014). Emerging infectious diseases/pathogens. Available: Accessed: August 2014.
- Nizeyi, J. B., Mwebe, R., Nanteza, A., Cranfield, M. R., Kalema, G. R., Graczyk, T. K. (1999). *Cryptosporidium sp.* and *Giardia sp.* infection in mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) of the Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. *Journal of Parasitology*, 85: 1084-1088.
- Njiokou, F., Laveissiere, C., Simo, G., Nkinin, S., Grébaud, P., Cuny, G., Herder, S. (2006). Wild fauna as a probable animal reservoir for *Trypanosoma brucei gambiense* in Cameroon. *Infection Genetics and Evolution*, 6: 147-153.
- Njiokou, F., Simo, G., Nkinin, S. W., Laveissiere, C., Herder, S. (2004). Infection rate of *Trypanosoma brucei s.l.*, *T. vivax*, *T. congolense* "forest type", and *T. simiae* in small wild vertebrates in south Cameroon. *Acta Tropica*, 92: 139-146.
- Njitchouang, G. R., Njiokou, F., Nana-Djeunga, H. C., Moundipa-Fewou, P., Asonganyi, T., Cuny, G. (2010). Analysis of the domestic animal reservoir at a microgeographical scale, the Fontem sleeping sickness focus (South-West Cameroon). *Journal of Cell and Animal Biology*, 4 (5): 73-80.
- Okiwelu, S. N. (1975). Seasonal distribution and variations in diurnal activity of Tabanidae in the republic of Zambia. *Mosquito News*, 35: 551-554.
- Ollomo, B., Durand, P., Prugnolle, F., Douzery, E., Arnathau, C. et al. (2009). A new Malaria Agent in African Hominids. *PloS Pathogens*, 5: e1000446.doi:10.1371/journal.ppat.1000446.
- Ostfeld, R. S., LoGiudice, K. (2003). Community disassembly, biodiversity loss, and the erosion of an ecosystem service. *Ecology*, 84: 1421-1427.
- Palsboll, P.J., Allen, J., Bérubé, M. et al. (1997). Genetic tagging of humpback whales. *Nature*, 388: 767-769.
- Parida, S. K., Hazra, R. K., Marai, N., Tripathy, H. K., Mahapatra, N. (2006). Host feeding patterns of malaria vectors of Orissa, India. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22: 629-634.
- Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. M., Park, E. C., Burke, D. S., Calisher, C. H., Laughlin, C. A., Saif, L. J., Daszak, P. (2008). Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72: 457-470.
- Pattyn, S., Jacob, W., Vandergroen, G., Piot, P., Courteille, G. (1977). Isolation of Marburg-like virus from a case of hemorrhagic fever in Zaire. *Lancet*, 1: 573-574.

- Patz, J. A., Daszak, P., Tabor, G. M., Aguirre, A. A., Pearl, M., Epstein, J. et al. (2004). Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ. Health Perspect*, 112: 1092-1098.
- Patz, J. A., Graczyk, T. K., Geller, N., Vittor, A. Y. (2000). Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International Journal of Parasitology*, 30: 1395-1405.
- Pearman, J. V. (1960). Some African psocoptera found on rats. *Entomologist*, 93: 246-50.
- Pearse, D. E., Eckerman, C. M., Janzen, J., Avise, J. C. (2001). A genetic analogue of 'mark-recapture' methods for estimating population size: an approach based on molecular parentage assessments. *Molecular Ecology*, 10: 2711-2718.
- Pedersen, A. B., Altizer, S., Poss, M., Cunningham, A. A., Nunn, C. L. (2005). Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. *International Journal of Parasitology*, 35: 647-657.
- Pedersen, A. B., Jones, K. E., Nunn, C. L., Altizer, S. (2007). Infectious Diseases and Extinction Risk in Wild Mammals. *Society for Conservation Biology*, DOI: 10.1111/j.1523-1739.
- Penrith, M. L., Thomson, G. R., Bastos, A. D. S. (2005). African swine fever. *Infectious Diseases of Livestock*. Oxford University Press.
- Pigott, D. M., Golding, N., Mylne, A., Huang, Z., Henry, A. J., Weiss, D. J. et al. (2014). Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *eLife*, 10.7554/eLife.04395.
- Piot, P., Feachem, R. G. A., Jong-Wook, L., Wolfensohn, J. D. (2004). The global response to AIDS: lesson learned, next steps. *Science*, 304: 1909-1910.
- Plowright, W., Thomson, G. R., Naser, J. A. (1994). African swine fever. *Infectious Diseases of Livestock*. Oxford University Press.
- Pollock, J. N. (1982). Training manual for tsetse control personnel. Tsetse biology; systematics and distribution; techniques. FAO, 280p.
- Ponlawat, A., Harrington, L. C. (2005). Blood feeding patterns of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Thailand. *Journal of Medical Entomology*, 42, 844-849.
- Pounds, J. A. et al. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, 439: 161-167.
- Price, P. W. (1980). Evolutionary biology of parasites. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

- Prugnonle, F., Durand, P., Ollomo, B., Duval, L., Ariey, F. et al. (2011). A Fresh Look at the Origin of *Plasmodium falciparum*, the Most Malignant Malaria Agent. *PLoS Pathogens*, 7: e1001283. doi: 10.1371/journal.ppat.1001283.
- Prugnonle, F., Duranda, P., Neelb, C., Ollomo, B., Ayala, F. J. et al. (2010). African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 107: 1458-1463.
- Rageau, J. (1964). Observations biologiques sur les Tabanidae de l'Océanie française, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 57: 1150-1159.
- Rageau, J., Adam, J. P. (1953). Répartition des glossines au Cameroun français. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des pays Tropicaux*, 6: 2.
- Reifenberg, J. M., Solano, P., Duvallet, G., Cuissance, D., Simpre, J. Cuny, G. (1997). Molecular characterization of trypanosome isolates from naturally infected domestic animals in Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, 71: 251-262.
- Reinhardt, E. (2002). Travailler ensemble: la mouche tsé-tsé et la pauvreté rurale. [Internet]. Available from: [http://www.un.org/french/pubs/chronique/2002/numero2/0202p17\\_la\\_mouche\\_tsetse.html](http://www.un.org/french/pubs/chronique/2002/numero2/0202p17_la_mouche_tsetse.html). Chronique ONU. 2002;ONU Editor-September 02.
- Ribeiro, J. M. C. (1995). Blood-feeding arthropods-live syringes or invertebrate pharmacologists. *Infectious Agents and Disease-Reviews Issues and Commentary*, 4: 143-52.
- Richards, S.L., Ponnusamy, L., Unnasch, T.R., Hassan, H.K., Apperson, C.S. (2004). Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in relation to availability of human and domestic animals in suburban landscapes of central North Carolina. *Journal of Medical Entomology*, 43: 543-551.
- Richard, A., Léonard, G. (1993). Le Gabon. *EDICEF / EDIG*, 287 pp.
- Richard, J. L., Pier, A. C. (1966). Transmission of *Dermatophilus congolensis* by *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica*. *American Journal of Veterinary Research*, 27: 419-423.
- Rodhain, F., Perez, C. (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire, Paris : 458 p.
- Rodríguez, N. F., Tejedor-Junco, M. T., González-Martín, M., Gutierrez, C. (2014). *Stomoxys calcitrans* as possible vector of *Trypanosoma evansi* among camels in an affected area of the Canary Islands, Spain. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47: 510-512.

- Roelke-Parker, M. E., et al. (1996). A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*, 376: 441-445.
- Rogers, D. J. (1988). A general model for the African trypanosomiasis. *Parasitology*, 97: 193-212.
- Rogers, D. J., Randolph, S. E. (1985). Population ecology of tsetse. *Annual Review of Entomology*, 30: 197-216.
- Roskov, Y., Kunze, T., Paglinawan, L., Abucay, L., Orrell, T. (2013). Species 2000 & IT IS Catalogue of Life, 10<sup>th</sup> December 2013. Species 2000, Naturalis, Leiden, The Netherlands. Digital resource at < [www.catalogueoflife.org/col](http://www.catalogueoflife.org/col)>.
- Ross, H. H., Ross, C. A., Ross, J. R. P. (1982). A textbook of entomology. John Wiley & Sons, New York. 666 pp.
- Rota, P. A., Oberste, M. S., Monroe, S. S. et al. (2003). Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science*, 300: 1394-1399.
- Rouquet, P., Froment, J. M., Bermejo, M., Kilbourn, A., Karesh, W. et al. (2005). Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001-2003. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 283-290.
- Rueda, L. M., Patel, K. J., Axtell, R. C., Stinner, R. E. (1990). Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 27: 892-898.
- Salou, E., Rayaissé, J. B., Laveissière, C., Sanon, A., Solano, P. (2012). Interaction comportementales et rythmes d'activité de *Glossina palpalis gambiensis* et *G. tachinoides* (Diptera: Glossinidae) en galerie forestière au Burkina Faso. *Parasite*, 19: 217-225.
- Sané, B., Laveissière, C., Meda, H. A. (2000). Diversité du régime alimentaire de *Glossina palpalis palpalis* en zone forestière de Côte d'Ivoire: relation avec la prévalence de la trypanosomiase humaine africaine. *Tropical Medicine & International Health*, 5: 73-78.
- Sawabe, K., Hoshino, K., Isawa, H., Sasaki, T. et al. (2006). Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 327-332.
- Schneider, M. C., Belotto, A., Ade, M. P., Leanes, L. F., Correa, E., Tamayo, H. et al. (2005). Epidemiologic situation of human rabies in Latin America in 2004. *Epidemiol Bull*, 26: 2-4.

- Schneider, M. C., Santos-Burgoa, C., Aron, J., Munoz, B., Ruiz-Velazco, S., Uieda, W. (1996). Potential force infection of human rabies transmitted by bats in the Amazonian region of Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 680-684.
- Schnell, I.B., Thomsen, P.F., Wilkinson, N., Rasmussen, M. et al. (2012). Screening mammal biodiversity using DNA from leeches. *Curr Biol*, 22: R262-R3.
- Schofield, S., Brady, J. (1996). Circadian activity pattern in the stable fly, *Stomoxys calcitrans*. *Physiological Entomology*, 21: 159-163.
- Schofield, S., Torr, S. J. (2002). A comparison of the feeding behaviour of tsetse and stable flies. *Medical and Veterinary Entomology*, 16: 177-185.
- Scott, T. W., Githeko, A. K., Fleisher, A., Harrington, L. C., Yan, G. (2006). DNA profiling of human blood in anophelines from lowland and highland sites in western Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 231-237.
- Sedda, L., Guerrini, L., Bouyer, J., Koné, N., Rogers, D. J. (2010). Spatio-temporal modelling of *Glossina palpalis gambiensis* and *Glossina tachinoides* apparent densities in fragmented ecosystems of Burkina Faso. *Ecography*, 33: 772-783.
- Shanks, G. D., Ragama, B. O., Oloo, A. J. (1999). Time to reappearance of malaria parasites following various drug treatment regimens in a holoendemic area of western Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 93(3): 304-305.
- Shaw, A. (2004). The economics of African trypanosomiasis. In *The Trypanosomiasis* (Maudlin, I. et al. eds), CABI: 369-402.
- Simarro, P. P., Diarra, A., Ruiz-Postigo, J. A., Franco, J. R., Jannin, J. G. (2011). The Human African Trypanosomiasis Control and Surveillance Programme of the World Health Organization 2000–2009: The Way Forward. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e1007.
- Simarro, P. P., Jannin, J., Cattand, P. (2008). Eliminating human African trypanosomiasis: where do we stand and what comes next? *Plos Medicine*, 5 (2): e55.
- Simo, G., Njiokou, F., Mbida-Mbida, J. A., Njitchouang, G. R., Herder, S., Asonganyi, T., Cuny, G. (2008). Tsetse fly host preference from sleeping sickness foci in Cameroon: epidemiological implications. *Infection Genetics and Evolution*, 8: 34-9.
- Simo, G., Njitchouang, G. R., Njiokou, F., Cuny, G., Asonganyi, T. (2012b). Genetic characterization of *Trypanosoma brucei* circulating in domestic animals of the Fontem sleeping sickness of Cameroon. *Microbes and Infection*, 14: 651-658.
- Simo, G., Silatsa, B., Njiokou, F., Lutumba, P., Mansinsa, P., Madinga, J., Manzambi, E., De-Deken, R., Asonganyi, T. (2012a). 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. *Parasites and Vectors*, 5: 201.
- Simon, J. H. M., Miller, D. L., Fouchier, R. A. M., Soares, M. A., Peden, K. W. C., Malim, M. H. (1998). The regulation of primate immunodeficiency virus infectivity by *Vif* is cell species restricted: a role for *Vif* in determining virus host range and cross-species transmission. *Eur. Med. Biol. Org. J.*, 17: 1259-1267.
- Smith, K. F., Guégan, J. F. (2010). Changing geographic distributions of human pathogens. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics*, 41: 231-250.
- Snow, R. W., Guerra, C. A., Noor, A. M., Myint, H. Y., Hay, S. I. (2005). The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*, 434: 214-217.
- Snow, W. F., Tarimo, S. A., Staak, C., Butler, L. (1988). The feeding habits of tsetse, *Glossina pallidipes* Austen on the south Kenya coast, in the context of its host range and trypanosome infection rates in other parts of East Africa. *Acta Tropica*, 45: 339-349.
- Solano, P., Michel, J. F., Lefrançois, T., La Rocque, S., Sidibé, I., Zoungrana, A. et al. (1999). Polymerase chain reaction as diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Veterinary Parasitology*, 86: 95-103.
- Sousa, O. E., Rossan, R. N., Baerg, D. C. (1974). The prevalence of trypanosomes and microfilariae in Panamanian monkeys. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 862-868.
- Spath, J. (2000). Feeding patterns of three sympatric tsetse species (*Glossina spp.*) (Diptera: Glossinidae) in the preforest zone of Côte d'Ivoire. *Acta Tropica*, 75: 109-118.
- Stanghellini, A., Josenando, T. (2001). The situation of sleeping sickness in Angola: a calamity. *Tropical Medicine and International Health*, 6 (5): 330-334.
- Steuber, S., Abdel-Rady, A., Clausen, P. H. (2005). PCR-RFLP analysis: a promising technique for host species identification of blood meals from tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *Parasitology Research*, 97: 247-254.
- Strother, S. (1999). Genus *Tabanus*. Tabanids (horseflies). What is this insect and how does it affect man? *Dermatology online journal*, 5: 6-6.
- Sutherland, B. (1979). Some effects of temperature on the adults, eggs and pupae of *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera : Muscidae). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 46: 223-227.
- Svobodova, M., Sadlova, J., Chang, K. P., Volf, P. (2003). Short report: Distribution and feeding preference of the sand flies *Phlebotomus sergenti* and *Phlebotomus*



- papatasi in a cutaneous leishmaniasis focus in Sanliurfa, Turkey. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 6-9.
- Taberlet, P., Waits, L. P., Luikart, G. (1999). Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution*, 14: 323-7.
- Tait, A., Eldirdiri, A. B., Le-Ray, D. (1984). Enzyme variation in *Trypanosoma brucei* ssp. I. Evidence for the sub-speciation of *T. brucei gambiense*. *Parasitology*, 89: 311-326.
- Taufflieb, R. (1981). Tabanidae. In : Flore et faune aquatiques de l' Afrique Sahélo-soudanienne. Initiations-Documentations Techniques, Paris: *ORSTOM*, 45: 617-624.
- Taufflieb, R., Finelle, P. (1956). Etude écologique et biologique des tabanides d'Afrique équatoriale française. *Bulletin-Institut d'Etude Centrafricaines*, 12: 209-251.
- Taylor, L. H., Latham, S. M., Woolhouse, M. E. J. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 356: 983-989.
- Tempelis, C. H., Nelson, R. L. (1971). Blood-feeding patterns of midges of the *Culicoides variipennis* complex in Ker county, California. *Journal of Medical Entomology*, 8: 532-534.
- Terblanche, J. S., Clusella-Trullas, S., Deere, J. A., Chown, S. L. (2008). Thermal tolerance in a south-east African population of the tsetse fly *Glossina pallidipes* (Diptera: Glossinidae): implications for forecasting climate change impacts. *Journal of Insect Physiology*, 54: 114-127.
- Teskey, H. J. (1990). The insects and arachnids of Canada and Alaska, part 16. The horse flies and deer flies (Diptera: Tabanidae). Agriculture Canada Publication, Ottawa.
- Thoisy, B., Vogel, I., Reynes, J. M., Pouliquen, J. F., Carme, B., Kazanji, M., Vie, J. C. (2001). Health evaluation of translocated free-ranging primates in French Guiana. *American Journal of Primatology*, 54: 1-16.
- Toma, B., Benet, J. J., Dufour, B., Eloit, M., Moutou, F., Sanaa, M. (1991). Glossary of animal epidemiology. Maisons-Alfort. Editions du point vétérinaire, 25 rue de Bourgelat.
- Torr, S. J. et al. (1997). Methods for dispensing odour attractants for tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *Bulletin of Entomology Research*, 87: 299-311.
- Torr, S. J. et al. (2006). The effects of host physiology on the attraction of tsetse (Diptera: Glossinidae) and *Stomoxys* (Diptera: Muscidae) to cattle. *Bulletin of Entomology Research*, 96: 71-84.
- Torr, S. J., Hargrove, J. W. (1998). Factors affecting the landing and feeding responses of the tsetse fly *Glossina pallidipes* to a stationary ox. *Medical and veterinary entomology*, 12: 196-207.

- Torr, S. J., Vale, G. A. (2015). Know your foe: lessons from the analysis of tsetse fly behaviour. *Trends in Parasitology*, 31 (3): 95-99.
- Vale, G. A. (1974b). New field methods for studying responses of tsetse flies (Diptera, Glossinidae) to hosts. *Bulletin of Entomological Research*, 64: 199-208.
- Vale, G. A. (1974a). Responses of tsetse flies (Diptera, Glossinidae) to mobile and stationary baits. *Bulletin of Entomological Research*, 64: 545-588.
- Vale, G. A. (1980). Field studies of the responses of tsetse flies (Glossinidae) and other Diptera to carbon dioxide, acetone and chemicals. *Bulletin of Entomology Research*, 70: 563-570.
- Vale, G. A., Hargrove, J. W., Solano, P., Courtin, F., Rayaisse, J. B. et al. (2014). Explaining the host-finding behavior of blood-sucking insects: computerized simulation of the effects of habitat geometry on tsetse fly movement. *PloS Neglected Tropical Diseases*, 8 (6), e2901.doi:10.1371/journal.pntd.0002901.
- Van den Bossche, P., Staak, C. (1997). The importance of cattle as a food source for *Glossina morsitans morsitans* in Katete district, Eastern Province, Zambia. *Acta Tropica*, 65: 105-109.
- Van Hennekeler, K., Jones, R. E., Skerratt, L. F., Fitzpatrick, L. A., Reid, S. A., Bellis, G. A. (2008). A comparison of trapping methods for Tabanidae (Diptera) in North Queensland, Australia. *Medical and Veterinary Entomology*, 22: 26-31.
- Vande-Weghe, J. P. (2012). MOUKALABA DOUDOU. Agence National des Parcs Nationaux (ANPN), Libreville, Gabon. 296 pp.
- Van-Hoof, L. M. J. (1947). Observations on trypanosomiasis in the Belgian Congo. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 40: 728-761.
- Volkman, S. K., Barry, A. E., Lyons, E. J., Nielsen, K. M., Thomas, S. M. et al. (2001). Recent origin of *Plasmodium falciparum* from a single progenitor. *Science*, 293: 482-484.
- Waage, J. K. (1979). The evolution of insect/vertebrate associations. *Biological Journal of the Linnaean Society*, 12: 187-224.
- Waiswa, C., Picozzi, K., Katunguka-Rwakishaya, E., Olaho-Mukani, W., Musoke, R. A., Welburn, S. C. (2006). *Glossina fuscipes fuscipes* in the trypanosomiasis endemic areas of south eastern Uganda: Apparent density, trypanosome infection rates and host feeding preferences. *Acta Tropica*, 99: 23-29.
- Wall, R., Shearer, D. (1997). *Veterinary Entomology*. Chapman & Hall: London.
- Walsh, P. D., et al. (2003). Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature*, 422: 611-614.

- Webb, P. A., Happ, C. M., Maupin, G. O., Johnson, J. B., Ou, C. Y., Monath, T. P. (1989). Potential for insect transmission of HIV: experimental exposure of *Cimex hemipterus* and *Toxorhynchites amboinensis* to Human Immunodeficiency Virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 160: 970-977.
- Weitz, B. (1963). The feeding habits of *Glossina*. *Bulletin of the World Health Organization*, 28: 711-729.
- Weitz, B., Glasgow, J. P. (1956). *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 50: 593.
- Weitz, B., Jackson, C. H. N. (1955). *Bulletin of Entomology Research*, 46: 531.
- Welburn, S. C., Maudlin, I., Simarro, P. P. (2009). Controlling sleeping sickness-a review. *Parasitology*, 136: 1943-1949.
- White, L. J. T., Abernethy K. A. (1996). Guide de la végétation de la réserve naturelle de la Lopé, Gabon. Ecofac-Gabon, multipress : 224 p.
- Wilcox, B. A., Glubler, D. J. (2005). Disease ecology and the global Emergence of zoonotic pathogens. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 10: 263-272.
- Wilkerson, R. C., Butler, J. F., Pechuman, L. L. (1985). Swarming, hovering, and mating behavior of male horse flies and deer flies (Diptera:Tabanidae). *Myia*, 3: 15-546.
- Williams, E. S., Yuill, T., Artois, M., Fischer, J., Haigh, S. A. (2002). Emerging infectious diseases in wildlife. *Sci. Tech. Rev. Int. Off. Epiz*, 21: 139-157.
- Wilson, B. H., Richardson, C. G. (1969). Tabanid hosts in estuarine and alluvial areas of Louisiana. *Annals of the Entomological Society of America*, 62: 1043-1046.
- Wolfe, N. D., Daszak, P., Kilpatrick, A. M., Burke, D. S. (2005). Bushmeat hunting, deforestation, and predicting zoonotic emergence. *Emerging Infectious diseases*, 11: 1822-1827.
- Wolfe, N. D., Dunavan, C. P., Diamond, J. (2007). Origins of major human infectious diseases. *Nature*, 447: 279-283.
- Wolfe, N. D., Switzer, W. M., Carr, J. K., Bhullar, V. B., Shanmugam, V., Tamoufe, U. et al. (2004). Naturally acquired simian retrovirus infections in central African hunters. *Lancet*, 363: 932-937.
- Woods, J. G., Paetkau, D., Lewis, D., McLellan, B. N., Proctor, M., Strobeck, C. (1999). Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin*, 27: 616-627.
- Woodford, M. H., Butynski, T. M., Karesh, W. B. (2002). Habituating the great apes: the disease risks. *Oryx*, 36: 153-160.

- Woolhouse, M. E. (2008). Epidemiology: emerging diseases go global. *Nature*, 451(7181): 898-899.
- Woolhouse, M., E., Howey, R., Gaunt, L., Reilly, L., Chase-Topping, M., Savill, N. (2013). Temporal trends in the discovery of human viruses. *Proceedings the Royal Society: Biology*, 275: 2111-2115.
- Woolhouse, M., E., Gaunt, L. (2007). Ecological origins of novel human pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*, 33: 231-242.
- Woolhouse, M., E., Gowtage-Sequiera, S. (2005). Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 1842-1847.
- Woolhouse, M., E., Haydon, D. T., Antia, R. (2005). Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 238-244.
- Woolhouse, M. E., Taylor, L. H., Haydon, D. T. (2001). Population biology of multihost pathogens. *Science*, 292 (5519) : 1109-1112.
- World Health Organization. (1996). Weekly epidemiological record: 17-22.
- World Health Organization. (2004). World Health Report-2000, World Health Organization.
- World Health Organization. (2006). Human African Trypanosomiasis (sleeping sickness): epidemiological update. *Weekly Epidemiological Record*, 81: 71-80.
- Yvoré, P., Lacotte, R., Finelle, P. (1965). Etude de la biologie et de l'écologie de *Glossina fusca congolensis* Newst et Evans en République Centrafricaine. I. Influence du climat et de la végétation sur la répartition de la densité des glossines. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 18 : 2-2.
- Zinga-Kouma, R., Bouyer, J., Mavoungou, J. F., Acapovi-Yao, G. L. et al. (2013). Evaluation de la diversité des diptères hématophages dans une clairière marécageuse du Gabon à l'aide des pièges Vavoua et Nzi. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 66: 91-96.
- Zinga-Koumba, C. R., Mbang-Nguema, O. R., Kohagne-Tongué, L. et al. (2014). Contribution à l'évaluation de la diversité des vecteurs biologiques de la Trypanosomose Humaine Africaine et de leur activité journalière dans le Parc National de l'Ivindo (Nord-Est du Gabon). *Journal of Applied Biosciences*, 80, 7060-7070.
- Zinser, M., Ramberg, F., Willott, E. (2004). *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as a potential West Nile virus vector in Tucson, Arizona: Blood meal analysis indicates feeding in both humans and birds. *Journal of Insect Science*, 4: 20-23.

Zumpt, F. (1973). The Stomoxyinae biting flies of the world. In: Taxonomy, Biology, Economic Importance and Control Measures, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 175pp.

---

Identification, écologie et utilisation des diptères hématophages (Glossinidae, *Stomoxys* et Tabanidae) comme moyen d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage dans quatre parcs du Gabon.

---

**Résumé:** Avec la mise en place des politiques de conservations des espèces sauvages, l'extension de l'urbanisation et l'accroissement des populations humaines, le contact homme-faune a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies. Par conséquent, le nombre de maladies d'origines zoonotiques a explosé avec six apparitions d'agents infectieux par an, dont 75% sont susceptibles d'être transmises par un vecteur. La plupart de ces maladies n'ayant pas encore de vaccins, les principales méthodes d'évitements sont basées sur les stratégies de lutte anti-vectorielle adaptées à l'écologie et au comportement alimentaire des vecteurs. Au Gabon, particulièrement dans les parcs nationaux, nous avons identifié six espèces de glossines (*Glossina palpalis palpalis*, *G. fuscipes fuscipes*, *G. fusca congolense*, *G. pallicera newsteadi*, *G. caliginea* et *G. tabaniformis*) vivant principalement en milieux forestiers, six espèces de stomoxes (*Stomoxys calcitrans*, *S. inornatus*, *S. niger niger*, *S. niger bilineatus*, *S. omega omega* et *S. transvittatus*) inféodées aux milieux ouverts types forêt secondaire, savane et villages. Nous avons également identifié six espèces de tabanides (*Ancala sp.*, *Atylotus sp.*, *Chrysops sp.*, *Haematopota sp.*, *Tabanus par* et *T. taeniola*), mais leur distribution n'était pas claire dans les milieux prospectés. Par ailleurs, nous constatons que ces mouches hématophages ont un régime alimentaire très diversifié, comprenant les mammifères terrestres et aquatiques, les reptiles et les oiseaux. Elles se nourrissent à 86% sur la faune, contre seulement 14% sur l'homme. Cependant, dans les milieux anthropisés les repas sanguins d'origine humaine sont très importants, notamment dans les villages (100%) et autour des camps de recherche implantés dans les parcs (24%). Ainsi en l'absence de faune dans le milieu, ces mouches hématophages se nourrissent sur l'homme. Comme 75% des maladies émergentes chez l'homme proviennent de la faune sauvage et que près de  $\frac{3}{4}$  d'entre elles circulent via le sang, elles sont donc susceptibles d'être détectées dans les repas sanguins de mouches hématophages. Cette technique d'échantillonnage non-invasif de la faune sauvage semble être un bon moyen d'identifier les agents infectieux à ADN (plasmodiums et trypanosomes), mais reste encore imprécise pour les agents infectieux à ARN (arbovirus).

**Mots-clés:** Mouches hématophages, Éco-distribution, Repas sanguins, Saisons climatiques, Échantillonnage non-invasif, Faune sauvage, Conservation, Activités humaines, Criblage de pathogènes, Parc nationaux, Gabon.

---

Identification, ecology and use blood meals from hematophagous Diptera (Glossinidae, *Stomoxys* and Tabanidae) for noninvasive sampling of wildlife in four national parks of Gabon.

---

**Abstract:** The contact between human and wild fauna has considerably increased during these last decades due to the increase of human population size but also to conservation policies. As a consequence, the number of zoonotic diseases soared with a mean of six new infectious diseases per year, 75% of whom being vectorially transmitted. The way to avoid the human contamination by these emergent diseases is based on the efficient vector control resulting from a deep knowledge of the ecology and the feeding behavior of the different vector species. During our work, we have identified and characterized the ecology of 6 tsetse species (*Glossina palpalis palpalis*, *G. fuscipes fuscipes*, *G. fusca congolense*, *G. pallicera newsteadi*, *G. caliginea* and *G. tabaniformis*) that live in forests and 6 stomoxe species (*Stomoxys calcitrans*, *S. inornatus*, *S. niger niger*, *S. niger bilineatus*, *S. omega omega* and *S. transvittatus*) that live in and around (anthropized places) conservation areas. We have also identified 6 tabanid species (*Ancala sp.*, *Atylotus sp.*, *Chrysops sp.*, *Haematopota sp.*, *Tabanus par* and *T. taeniola*). The feeding ecology of the tsetse species have been studied through the determination of host extracted from blood meals in the insect caught with molecular techniques. These hematophagous insects had a diversified diet that was constituted of diverse mammal species but also reptiles and birds. The food intake results mostly from wild fauna (86%) and more rarely from humans (14%). However, in anthropised habitats (villages and research's camps within the parks), the blood intakes from human origin were important, in particular in the villages (100%), suggesting that without wild fauna the flies shift on human host. In the last part of our work, we tried to identify pathogens in the blood samples extracted from the tsetse species in order to test whether these species could be used as living sampling syringe of the wild fauna. This new proposed non-invasive sampling techniques allowed to detect the DNA of various infectious agents (plasmodiums and trypanosomes), but failed to detect the RNA of viruses (arbovirus) suggesting that this approach could be useful but need to be improved.

**Keywords:** Hematophagous flies, Eco-distribution, Blood meals, Climatic seasons, Non-invasive sampling, Wildlife, Conservation, Human activity, Pathogen screening, National parks, Gabon.