

# Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES

## 1.1. La zone d'étude et la période

La zone d'étude du projet est la région des Niayes située au nord-est de Dakar (figure 7) et une partie de la Petite Côte. La région des Niayes s'inscrit administrativement dans les quatre régions bordant la frange maritime du nord du pays : Dakar, Thiès, Louga et Saint-Louis. La zone des Niayes doit son appellation à la présence de vestiges forestiers de type guinéen, constitués de palmiers à huile situés dans des bas-fonds argileux que parcourent des marigots (**Touré, 1973**) qui est fortement soumise à la pression humaine. Elle couvre une superficie d'environ 283 km<sup>2</sup> et s'étire sur une longueur de 180 km, et sa largeur varie de 5 à 30 km à l'intérieur des terres. Elle est généralement limitée dans sa partie intérieure par la route nationale Dakar Saint-Louis. La zone est caractérisée par une saison pluvieuse allant de juillet à septembre avec des précipitations annuelles de 400-500 mm. La température moyenne journalière varie entre 25-30°C avec une humidité relative de 60-80%.

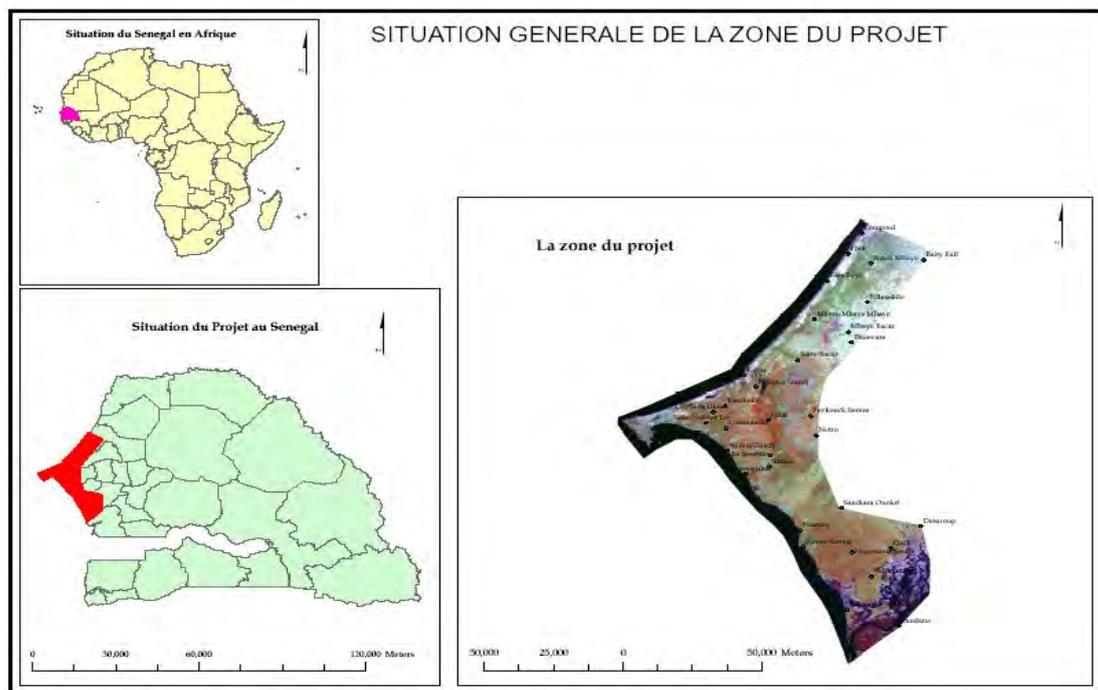


Figure 7: Localisation de la zone des Niayes

Notre zone d'étude a été découpée en 294 mailles de 5 km sur 5 km (superficie de 25 km<sup>2</sup> par maille) (figure 8). Des sites d'échantillonnage ont été choisis sur la base des types de végétation favorables à l'habitat des glossines. Ce qui a permis de réduire de façon significative les zones à échantillonner. Une numérisation manuelle de tous les sites favorables a été effectuée puis ces mailles et polygones ont été rapatriés dans les GPS (Global Position System).

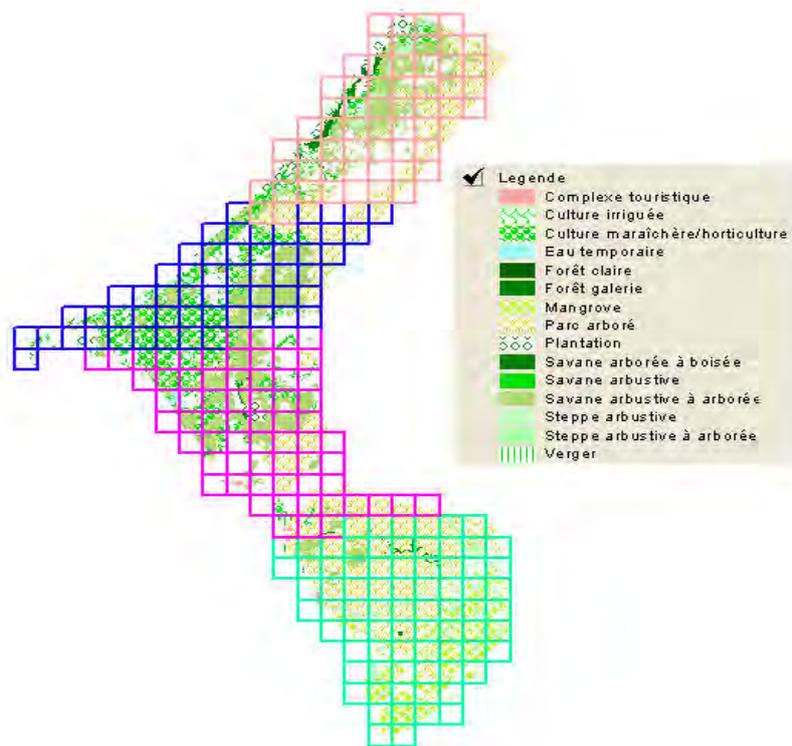
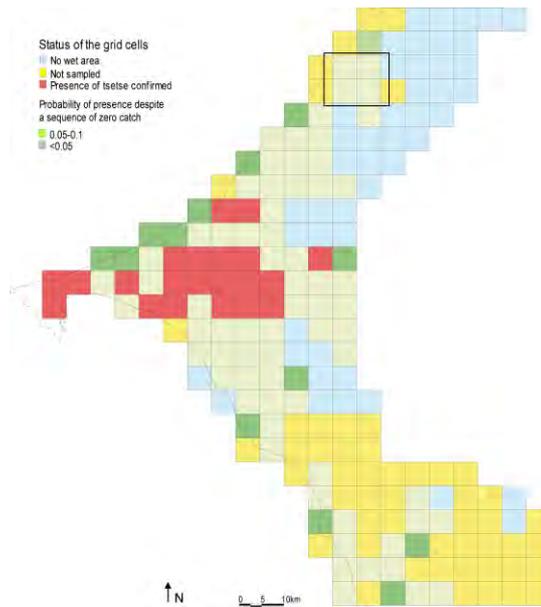


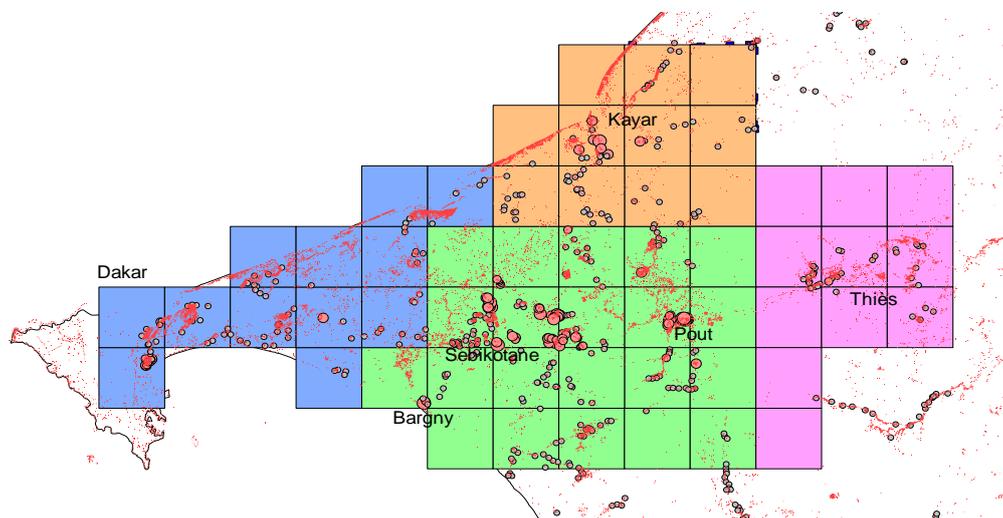
Figure 8: Carte de végétation, blocs et mailles

Les prospections entomologiques, permettant de statuer sur la présence ou l'absence de glossines, ont permis de définir la distribution des glossines (figure 9).



**Figure 9: Distribution des glossines dans la zone des Niayes**

En fonction de cette répartition des glossines, la zone est subdivisée en quatre blocs : bloc 1 (Kayar), bloc 2 (Bargny, Sébikotane, Diacksao Peul et Pout), bloc 3a (Dakar), et bloc 3b (Thiès) (figure 10).



**Figure 10: Subdivision de la zone en blocs**

Notre étude a été réalisée sur deux blocs :

✓ Le bloc 1 correspond à la zone de Kayar, se trouvant à 85 km de Dakar. Sa végétation est constituée de palmeraies, de vergers d'agrumes, de manguiers et d'une haie vive d'euphorbe avec des bas-fonds marécageux contenant de

l'eau naturelle en permanence. Cette zone est fréquentée par le bétail et on note une forte utilisation d'insecticides pour la culture maraichère.

Dans cette zone, la phase de suppression par la lutte chimique (pose de pièges imprégnés de deltaméthrine) est achevée et nous en sommes à la phase d'élimination (ou d'éradication) par lâchers de mâles stériles (lutte biologique).

✓ Le bloc 2 composé de quatre sites : Pout, Sébikotane, Bargny et Diacksao Peul : la végétation est constituée essentiellement de vergers d'agrumes, de manguiers et une haie vive d'euphorbe, sans eau naturelle en surface. On note l'utilisation d'insecticides contre des mouches de fruits.

Dans ce bloc, nous sommes à la phase de suppression qui consiste à poser des pièges imprégnés dans les zones cibles.

L'étude s'est déroulée de septembre 2012 à février 2013.

## **1.2. Stratégie de lutte intégrée**

La lutte intégrée consiste à utiliser les différentes méthodes de lutte en combinaison ou en succession, en adaptant la stratégie à chaque situation particulière. Le projet d'éradication des mouches tsé-tsé dans la zone des Niayes a adopté le principe de la lutte intégrée subdivisée en deux phases :

- la suppression des glossines par la pose de pièges imprégnés d'insecticides et le traitement insecticide des animaux (lutte chimique)
- l'éradication par lâcher de mâles stériles (lutte biologique)

## **1.2.1 Lutte chimique : réduction de la densité glossinienne**

### **1.2.1.1 Dans le bloc 2**

#### **1.2.1.1.1 Mesure des DAP avant la lutte**

Dans le bloc 2, des sites ont été identifiés pour l'étude des DAP (Densités Apparentes des Populations). Il s'agit d'endroits où des prospections entomologiques ont montré la présence de populations de glossines. Ces sites sont : Pout, Sébikotane, Bargny et Diacksao Peul. Dans chaque site, des pièges géo-référencés ont été posés pour mesurer les DAP.

Nous avons utilisé des pièges biconiques (figure 11). Ils sont posés de façon verticale à environ 20 à 30cm du sol. Des fiches de terrain ont été conçues. Chaque piège est identifié par un code et les coordonnées géographiques sont relevées. La végétation est décrite aux alentours de chaque piège. Le matériel utilisé pour la pose des pièges est constitué de :

- ✓ pièges biconiques,
- ✓ piquets en fer,
- ✓ cages en fer,
- ✓ cônes en fer,
- ✓ moustiquaires,
- ✓ marteaux pour enfoncer les piquets au sol,
- ✓ étiquettes pour marquer le numéro du piège.

Une fois les pièges posés, la lecture est faite 48 heures après. Par exemple, les pièges posés le lundi sont lus le mercredi et ceux du mardi sont lus le jeudi, en prenant soin de noter les dates et les heures de pose et de collecte pour chaque piège. Les différentes mouches capturées sont identifiées puis dénombrées. Nous avons ainsi posé 72 pièges géo référencés (figure 12). Ces pièges sont destinés au suivi entomologique (suivi sentinelle) qui précède la pose de pièges imprégnés. Pour le suivi de la suppression, ces pièges non imprégnés sont posés aux mêmes points pour mesurer les DAP.



Figure 11: Pose de piège biconique géo référencés (cliché Abdou Gaye. MBAYE)

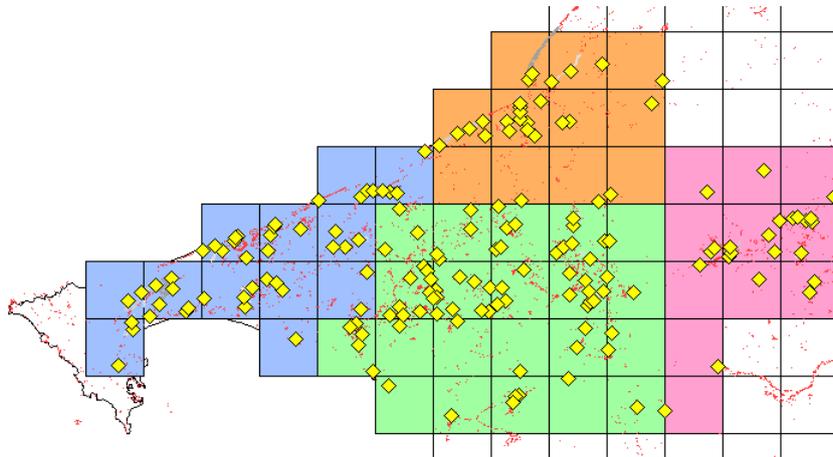


Figure 12: Localisation des pièges sentinelles géo référencés dans le bloc 2

### 1.2.1.1.2 Pose de pièges imprégnés

Nous avons posé 1222 pièges imprégnés géo référencés (figure 13) à raison de 90 pièges par km<sup>2</sup> de zone favorable pour le bloc 2. Il s'agit des pièges mono coniques (figure 14) imprégnés de deltaméthrine qui est un insecticide utilisé pour lutter contre les glossines. Ainsi, les mouches sont tuées une fois en contact avec les pièges.

Le matériel utilisé pour la pose des pièges imprégnés est constitué de :

- ✓ pièges mono coniques,
- ✓ piquets en fer,
- ✓ cônes en fer,
- ✓ moustiquaires imprégnés,

- ✓ marteaux pour enfoncer les piquets au sol,
- ✓ étiquettes pour marquer le numéro du piège.

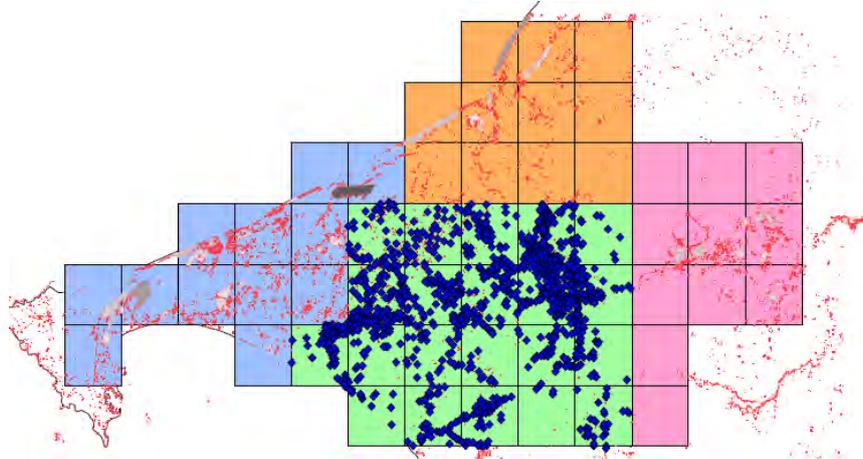


Figure 13: Positions des pièges imprégnés dans le bloc II (vert)



Figure 14: Piège mono conique imprégné (cliché Awa G. FALL)

### 1.2.1.1.3 Mesure des densités apparentes après la lutte

Cette phase est prévue après la pose des pièges imprégnés. Il s'agit de poser des pièges non imprégnés pour mesurer les DAP. Au cours de notre étude, nous avons réalisé une série de mesure. Les pièges géo référencés au nombre de 72 sont posés et la lecture réalisée 48 heures après

### 1.2.1.2 Dans le bloc 1

Données entomologiques antérieures : dans le bloc 1, le dispositif de suppression a été étendu à toute la zone de Kayar (250 km<sup>2</sup>, dont 8,8 km<sup>2</sup> de zones favorables). Environ 303 pièges imprégnés d'insecticides (figure 15) ont été posés en fin 2011. Le suivi des pièges sentinelles a montré une seule glossine capturée le 11 avril 2012 et depuis aucune glossine sauvage n'a été capturée. La pose de pièges imprégnés d'insecticides a réussi à réduire de façon considérable les densités des glossines dans la zone de Kayar. C'est ainsi que la phase de lutte biologique a été entreprise dans ce site, d'abord par des lâchers hebdomadaires de mâles stériles dans deux zones (favorable et défavorable), ensuite depuis le 11 mai 2012 par des lâchers toujours hebdomadaires, sur 10 points. Ces lâchers ont été effectués au sol.

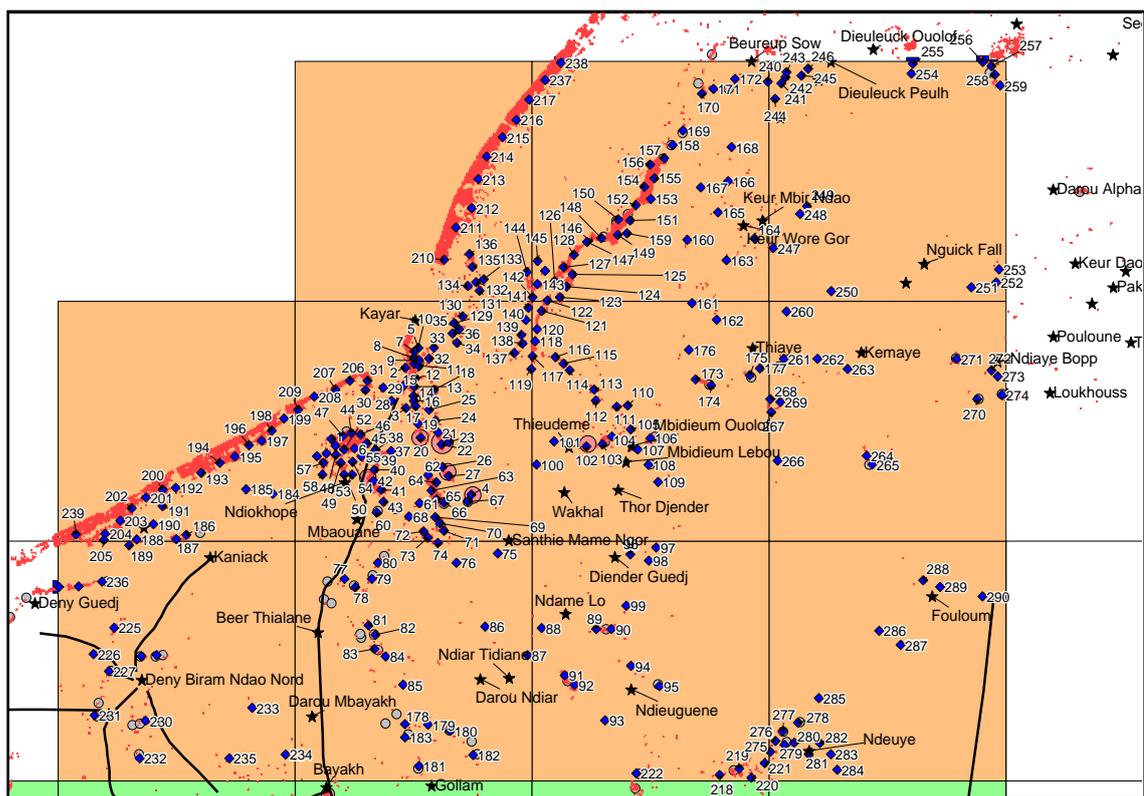


Figure 15: Localisation des pièges de lutte mis en place en 2011 à Kayar

## 1.2.2 Lutte biologique par lâcher de mâles stériles : éradication des glossines dans le bloc 1

La première phase du projet de lutte contre les glossines et la trypanosomose par pose de pièges imprégnés d'insecticides a réussi à réduire de façon considérable les densités des glossines dans une partie de la zone cible (Kayar). Tous ces résultats ont motivé les acteurs du projet à mettre en place en 2012 une stratégie d'éradication des glossines par lâcher au sol d'abord, ensuite aérien depuis mars 2013.

### **1.2.2.1 Matériel biologique**

Il s'agit de mouches tsé-tsé stériles (*Glossina palpalis gambiensis* souche BKF). Ces mâles stériles sont issus de pupes qui proviennent de l'insectarium du CIRDES de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Des pupes mâles de quatre semaines d'âge sont irradiées dans cet insectarium et acheminées par avion à l'insectarium de l'ISRA/LNERV à Dakar (figure 16).

Dans l'insectarium du CIRDES, les émergences sont bloquées à froid (10°C) dès que la quasi-totalité des femelles a fini d'émerger. Les pupes mâles irradiées (dose 110 Gray aux rayons gamma pendant 24 minutes et 30 secondes) à froid dans des boîtes de pétri (figure 16), sont conditionnées dans des boîtes isothermes contenant des packs S8 (pour maintenir la température en dessous de 10°C) généralement au nombre de six et des humidipacks (stabilisateurs de l'humidité relative). Au cours du transport, des hobos (enregistreurs de température et d'humidité relative) sont introduits dans les boîtes isothermes pour suivre l'évolution de la température et de l'humidité (figure 16).

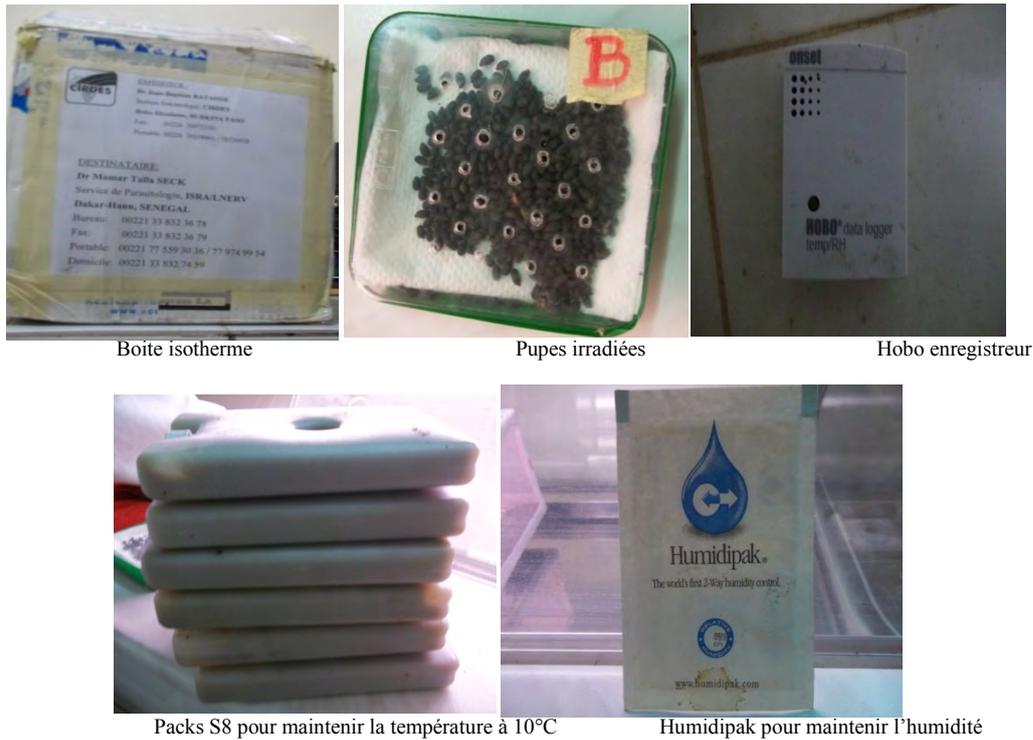


Figure 16 : Eléments composant le coli envoyé par le CIRDES

### 1.2.2.2 Emergence, marquage et suivi des mouches à l'insectarium

- Les pupes arrivent habituellement les samedis. Une fois arrivées à l'insectarium, les pupes sont mises dans des boîtes de pétri contenant du sable d'enfouissement, assimilable aux conditions naturelles d'émergence et mélangé avec de la poudre fluorescente (0,25%) pour le marquage. Le travail est effectué dans le chiller (table froide) pour maintenir le blocage. Les boîtes de pétri sont ensuite mises dans des cages d'émergence et introduites dans local d'élevage (figure 17).



Sables colorés avec la poudre fluorescente

Enfouissement des pupes

Emergence des glossines

**Figure 17: Conditions d'émergence des glossines dans les cages (cliché Awa G. FALL)**

- Les mouches se marquent ainsi à l'émergence lors de l'évagination du sac ptilinal. Des poudres de différentes couleurs sont utilisées pour identifier les lots au cours des lâchers. Nous disposons ainsi de quatre couleurs : vert, jaune, rouge et orange utilisées à tour de rôle chaque semaine. Ainsi la même couleur ne sera utilisée que quatre semaines après. La couleur de chaque lâcher correspond à une série.
- Après émergence (figure 17), on fait endormir les mouches au froid (à l'intérieur du chiller) pour procéder au tri avant de les mettre ensuite dans des cages d'élevage (120 mouches mâles par cage). Le tri consiste à récupérer les mouches mâles de bonne qualité et de retirer du dispositif, les femelles et les mouches avec des ailes non déployées. Tous les matins, le tri est effectué jusqu'à la fin des émergences.



Table froide pour endormir les glossines



Cages d'émergence dans le chiller



Tri des glossines



Mise en cage d'élevage des glossines

**Figure 18: Protocole de la mise en cage d'élevage des glossines (cliché Awa G. FALL)**

- Les glossines sont alimentées tous les jours avec du sang traité avec un trypanocide (Isométymidium), à la dose 10mg/l. L'incorporation de ce trypanocide permet d'éviter le développement cyclique des trypanosomes au sein des mouches. Au cours du traitement du sang, nous travaillons sous hotte. Le sang est aliquoté dans des flacons de 250 ml à 500 ml. Des échantillons du sang (à T=0 et à T=30 jours après stockage) sont également prélevés pour des analyses bactériologiques. Le sang est stocké à -20°C, jusqu'à utilisation. Le sang à utiliser dans la semaine est conservé à +4°C. Le sang est ainsi étalé sur un support métallique recouvert d'une membrane silicone et posée sur la table d'alimentation (plaque chauffante) réglée à 37°C, à l'abri de la lumière (pénombre), afin de stimuler l'appétit des mouches (figure 19).



Traitement du sang sous hotte

Conservation à - 20°C du sang aliquoté

Système d'alimentation

Plaque recouverte de membrane silicone

Alimentation des mouches

**Figure 19: Système d'alimentation des mouches avec le sang traité avec un trypanocide (cliché Awa G. FALL)**

- Après alimentation, un autre tri est effectué pour écarter les mouches mortes. A la fin de chaque séance de travail, tout le matériel utilisé est soigneusement nettoyé et mis à l'étuve pour stérilisation (figure 20).



**Figure 20 : Etuve pour stériliser le matériel (cliché Awa G. FALL)**

Les mouches mises dans des cages sont placées sur des charriots dans la pièce consacrée à l'élevage. Ce local est équipé d'un humidificateur (pour maintenir l'humidité autour de 80%), d'un split (régulation de la température autour de

24°C), d'une lumière automatique (mise en marche entre 7 heures et 19 heures) et d'hobos enregistreurs permettant de contrôler tous ces paramètres (figure 21).



**Figure 21 : Suivi des mouches dans le local d'élevage (cliché Awa G. FALL)**

### **1.2.1.3 Le test de qualité**

Chaque semaine, nous recevons environ 5000 pupes mâles stériles réparties en 2 lots de 2500 pupes. Pour chaque lot, 50 pupes sont prélevées pour faire le test de qualité qui consiste à placer la boîte de pétri qui les contient dans une gouttière de 8,5 cm de diamètre et 10 cm de hauteur. L'ensemble du dispositif est ensuite mis dans les cages d'émergence (figure 21). Après émergence, les mouches qui parviendront à s'envoler et sortir de la gouttière sont récupérées et mises dans de petites cages d'élevage. Ces mouches sont dans les mêmes conditions que celles utilisées pour les lâchers, à la différence qu'elles ne sont pas alimentées, afin d'évaluer leur qualité et leur survie.



Pupes dans le tube pour le test de qualité



Petits cages pour le test de qualité

**Figure 22 : Test de qualité (cliché Awa G. FALL)**

### 1.2.3 Lâchers au sol

Tous les vendredis, après alimentation, un dernier tri (figure 23) est effectué pour n'avoir que des mouches mâles et de bonne qualité. Ces mouches sont ensuite mises dans des cages (cages de Roubaud) contenant chacune 150 mouches (figure 24). Avant les lâchers, le taux d'émergence, taux de mortalité ainsi que la proportion de mâles normaux sont calculés afin d'avoir l'effectif à lâcher.



**Figure 23 : Mise en cage des mouches à lâcher**



**Figure 24 : Glossines dans les cages de lâcher**

Les mâles stériles sont transportés sur le terrain dans des cages de Roubaud (4,5×13×8 cm), couvertes de tulle de mailles 1mm×1mm et contenant chacune en moyenne 150 glossines (figure 23). A cet effet, un véhicule est utilisé pour

transporter les mouches jusqu'au site de lâcher (Kayar). Toutes les cages contenant les mouches sont mises dans un container (figure 25), qui est humidifié ou non en fonction des conditions climatiques. Un hobo est également introduit à l'intérieur du container pour enregistrer la température et l'humidité relative au cours du transport et du lâcher. Au niveau de chaque point, 1/10<sup>ème</sup> de l'effectif des mouches est lâché. Au niveau de chaque points de lâcher, les mouches non envolées sont récupérées pour être dénombrées, afin de connaître le nombre exact de mouches envolées. Le lâcher au sol se fait en étalant un drap blanc sur le lequel sont vidées les cages contenant les mouches. Au bout de 15 minutes, les mouches non envolées sont récupérées (Figure 25).



**Figure 25: Illustration des différentes étapes du lâcher au sol**

Après chaque lâcher, un dispositif de suivi est mis en place. Une vingtaine de pièges sentinelles géo référencés sont posés pendant 24 heures. Les mouches capturées sont identifiées (sauvages ou stériles), différencier (mâles ou femelles)

puis dénombrées. Les mouches femelles (toujours sauvages) sont disséquées pour déterminer l'état physiologique de l'appareil génital (avortement ou pas).

#### **1.2.4 Analyses statistiques**

Les données récoltées sur le terrain étaient saisies dans une base en ligne (<http://projet-tsetse-niayes.cirad.fr/>) puis exportées sur le logiciel Excel 2007.

Les analyses statistiques ont été faites avec les logiciels R et Excel 2007.

En statistiques, un test d'hypothèse est une démarche consistant à rejeter ou pas une hypothèse statistique, appelée hypothèse nulle, en fonction d'un jeu de données (échantillon). Il s'agit de statistique inférentielle : à partir de calculs réalisés sur des données observées, nous émettons des conclusions sur la population, en leur rattachant des risques de se tromper.

La normalité des distributions de DAP par date de capture a été évaluée par un test de Kolmogorov-Smirnov. Comme elles ne présentaient pas une distribution normale, elles ont été comparées par un test non paramétrique de Wilcoxon.