

Chapitre 2

Echantillonnage des vecteurs de parasites

Le terme de **vecteur** recouvre à la fois une entité zoologique et une fonction, celle d'assurer le passage d'un agent pathogène d'un vertébré à un autre.

Le vecteur est un organisme vivant (souvent invertébré), qui à l'occasion de relation écologique, acquiert un agent pathogène et le transmet d'un hôte à l'autre. Mais n'importe quel parasite n'est pas transmissible par n'importe quel vecteur hématophage

Les **virus** transmis par les insectes font partie de la famille des **arbovirus**, terme dérivant de diminutif d'arthropod-borne-virus.

Le mécanisme de transmission vectorielle comporte 3 phases :

- L'infection du vecteur a toujours lieu au cours d'un repas sanguin (hormis lors d'une transmission verticale, d'une génération à la suivante), le vecteur est donc obligatoirement un insecte hématophage.
- Le développement du parasite dans l'organisme du vecteur aura lieu uniquement si l'arthropode appartient à une espèce capable de l'assurer.
- La transmission au vertébré se produit lorsque le vecteur est devenu infectant, c'est-à-dire que le pathogène se trouve à un stade infectieux pour l'hôte vertébré

Capture de Moustiques (Culicidés) vecteurs des parasites et arbovirus

Les Culicidae sont des insectes piqueur-suceurs de sang appartenant à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères.

Dans le sous ordre des Diptères Nématocères, la famille des *Culicidae* regroupe l'ensemble des moustiques, elle comprend environ 3 200 espèces dans le monde. Elle est divisée en trois sous-famille (***Anophelinae***, ***Culicinae*** et ***Taxorhynchinae***).

Les *Aedes* et *Culex* appartiennent à la sous-famille des *Culicinae*.

Capture par Pièges lumineux type CDC (Center for Disease Control) (moustiques vivant)

Ce piège permet la capture d'un nombre important de moustiques par rapport aux autres insectes et souvent plus de femelles que de mâles avec un double objectif : échantillonnage de la faune culicidienne, étude des préférences trophiques des espèces de moustiques.



Ce type de piège est le plus souvent placé dans l'enceinte d'étables ou dans des enclos d'animaux tels que les bovins, les ovins, les caprins...

La lumière et les odeurs dégagées, combinées au gaz carbonique produit par les animaux, attirent les moustiques qui sont piégés par le ventilateur qui les aspire à l'intérieur du filet.

Le piège lumineux à gaz carbonique

Reeves & Hammon (1962) sont les premiers à proposer l'addition de gaz carbonique aux pièges pour augmenter les quantités de moustiques capturées en 1942.

Mais c'est à Sudia et Chamberlain que reviennent les premiers résultats confirmant l'intérêt de combiner lumière et gaz carbonique en 1962

Glace carbonique



Le gaz carbonique dégagé dans ce type de piège provient d'un pain de carboglace, qui combiné à la lumière, sert d'attractif aux moustiques. Le dispositif est le même que précédemment avec cependant une cellule photoélectrique et une caisse en bois pouvant contenir le carboglace.

Ce type de piège est généralement placé près des gîtes de ponte des moustiques (mare,...)

La pose du piège doit se faire au moins une heure avant le coucher du soleil car certains moustiques sont actifs au crépuscule. Le relevé doit se faire au lever du soleil.

La procédure de pose consiste à :

1. Accrocher le piège à son support habituel (pour information : le piège est à hauteur d'homme et si possible visible à 360 degrés),
2. Attacher le filet moustiquaire au piège (au besoin renforcer l'attache avec l'élastique),
3. Brancher le piège à la batterie,
4. Vérifier le bon fonctionnement (ventilation et lampe) du piège et que les branchements +et – sur la batterie sont correctes,
5. Renseigner la fiche de capture.

Les pièges à appât animal

Les pièges sont constitués de deux cages communicant superposées. La première en forme de nasse est constituée de quatre grilles métalliques reliées par des piquets dans laquelle est disposé l'animal appât dont on veut étudier l'attractivité.



Cette cage est recouverte **d'une moustiquaire** qui laisse un passage de quelques centimètres au dessus du niveau du sol servant de porte d'entrée aux moustiques et autres insectes attirés par les odeurs de l'animal appât.

Les moustiques, une fois attirés dans la cage, vont se gorger (mais pas tous) sur l'animal. Une lampe 1/8ème, s'allumant une minute toutes les huit minutes, est placée au dessus d'une petite cage de format carré en tulle, attire les moustiques gorgés vers cette dernière dans laquelle ils sont emprisonnés

Les deux cages sont **reliées** entre elles par une ouverture constituée par une tige creuse. Les cages sont relevées le matin et les moustiques au repos dans la moustiquaire sont capturés à l'aide d'un aspirateur électrique grâce à une manche ouverte sur la grande moustiquaire.

La pose du piège doit se faire au moins une heure avant le coucher du soleil car certains moustiques sont actifs au crépuscule. Le relevé doit se faire au lever du soleil.

Pêches larvaires

consiste à repérer et prospecter des gîtes potentiels de Culicides aussi bien en zones urbaines que suburbaines.

Les gîtes recherchés sont soit naturels : mare, fosse, bords d'oued... soit artificiels citerne, cave regard, réservoir, pneus, pot, seau...

Les prélèvements exigent l'utilisation du matériel suivant :

- Bocaux(en verre et en plastique),
- Bassine blanche,
- Louche et une cuillère,
- Filet Langeron de $8^{\circ}\mu\text{m}$ de vide de maille, et d'un volume de 3.56 cm^3 ,
- Alcool.

Les stades immatures des Culicidés sont mis dans des bocaux sur lesquels on note la date, l'heure de prélèvement et le nom de la station.

Les prélèvements sont ensuite transportés au laboratoire pour le montage.

Les mesures des paramètres physico-chimiques de l'eau de gîte se font au laboratoire (la température de l'eau, le pH, la salinité, la conductivité).

L'échantillonnage consiste à prélever à l'aide d'un filet longeron, les larves des moustiques se trouvant dans les gîtes.

Un coup de filet est donné pour recueillir les larves et il est répété dix fois dans les grands gîtes et cinq fois dans les gîtes à moyen volume.

Par contre dans le cas des petits gîtes, l'eau est déversée totalement dans une bassine blanche pour permettre la collecte de toutes les larves présentes.

Le **montage** des larves et l'identification des espèces nécessitent le matériel suivant :

- Lames, lamelles et compte-goutte,
- Loupe binoculaire,
- Boîte de pétri, pince souple et coupelle en verre,
- Epingles entomologiques et colle.

Les larves apportées au laboratoire sont à différents stades d'évolution, seules les larves du IV^{ème} stade sont prises en compte pour l'identification des espèces.

Le reste des larves est placé dans des bocaux afin de les élever, sous des conditions ambiante

2–Capture de Phlébotomes vecteurs de parasites et arbovirus

Les phlébotomes sont des Arthropodes appartenant à la Classe des Insectes, Ordre des *Diptera*, Sous-Ordre des Nématocères, Famille des *Psychodidae*

Chez l'Homme, ils piquent les parties découvertes du corps, notamment le visage, les mains, la région malléolaire. La pique douloureuse, occasionne des démangeaisons vives et persistantes qui se manifestent principalement le soir.

Pièges adhésifs

Des feuilles de papier blanc de format 20 x 20 cm sont enduites d'huile de ricin à l'aide d'un pinceau et ensuite stockées par petits paquets dans des bacs en plastique jusqu'au jour de l'emploi. L'huile de ricin a été choisie d'une part parce qu'elle ne possède aucun pouvoir répulsif sur les phlébotomes et d'autre part parce qu'elle est très visqueuse (les insectes s'y engluent solidement).

Sur le terrain, les pièges sont disposés le long d'itinéraire transects soit roulés en cornets et introduits dans les interstices des murs en pierres sèches ou des murs en argile, soit placés debout dans des barbacanes, des anfractuosités larges et des éboulis

Les phlébotomes sont récoltés dès que possibles, après la récupération des pièges pour éviter la dessiccation ou le développement de moisissures. Toutefois, la conservation au congélateur donne d'excellents résultats.



Pièges lumineux de type CDC

ces pièges sont dotés :

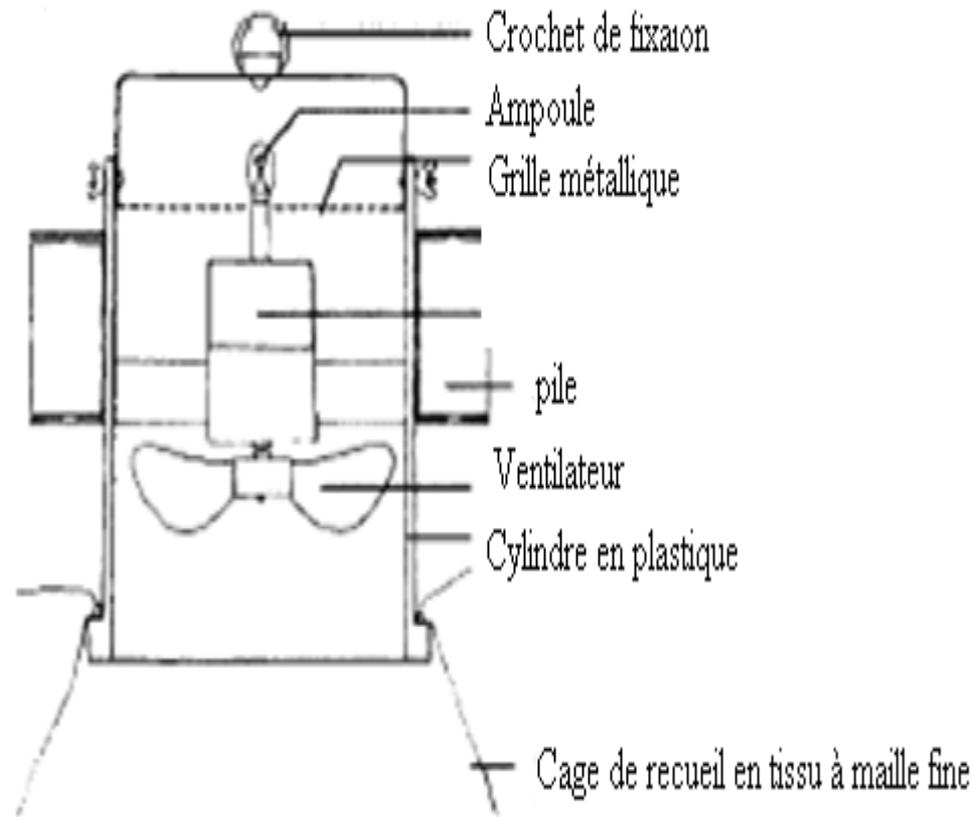
D'un moteur assurant le fonctionnement d'un petit ventilateur destiné à entretenir une aspiration continue de faible intensité.

Au dessus du ventilateur se trouve une petite ampoule de 0,3 Ampère. Le tout est alimenté par quatre piles rondes de 1,5 Volt qui sont suffisantes pour assurer un fonctionnement efficace pendant la totalité de la nuit et prévenir ainsi la fuite des phlébotomes capturés en maintenant la ventilation

se trouve à l'intérieur d'un cylindre transparent en matière plastique dont la partie supérieure est couverte d'un grillage métallique évitant la pénétration des insectes de grande taille et dont la partie inférieure est creusée d'une gorge destinée à l'ajustement de la cage de recueil.

Une cage recouverte d'un tissu à mailles très serrées dont la partie supérieure vient s'adapter à l'aide d'un élastique à la partie inférieure du cylindre.

Un couvercle métallique très aplati qui couvre le tout et protège l'appareil de la pluie et des Projections.



Les pièges CDC sont installés avant le coucher du soleil et restent fonctionnels toute la nuit.

Le lendemain matin, la cage est détachée et soigneusement fermée alors que le moteur fonctionne toujours, en prenant soin d'éviter la fuite des insectes piégés

Techniques de tri et de conservation

Pour les **pièges adhésifs**, les insectes englués sont prélevés à l'aide d'une aiguille fine et transférés dans des tubes contenant de l'éthanol à 95°.

Chaque tube est muni d'une étiquette portant la date et le nom de la station de capture.

Un séjour de 48 heures environ dans de l'alcool à 95° est nécessaire pour solubiliser totalement l'huile.

On remplace ensuite l'alcool à 95° par de l'alcool à 70° qui servira de milieu de conservation

Pour **les pièges CDC**, la partie supérieure de la cage en tissu est refermée et mise au réfrigérateur pendant une vingtaine de minutes afin d'immobiliser les phlébotomes.

Immédiatement après la sortie du réfrigérateur, la cage est ouverte et les phlébotomes prélevés à l'aide d'une pince entomologique ou d'un pinceau trempé dans l'alcool.

Le repérage des phlébotomes à l'intérieur de la cage est assez délicat, d'une part ceux-ci s'y trouvent mélangés à de nombreux autres insectes, d'autre part ils **redeviennent actifs** après quelques minutes à la température ambiante ce qui impose un nouveau séjour à 0 °C

Pour de bons montages qui faciliteraient l'identification ultérieure des spécimens collectés, un traitement préalable des spécimens est obligatoire,

Ce traitement consiste à l'éclaircissement des insectes et leur montage soit dans la gomme de chloral, soit dans le baume de canada.

Ces étapes nécessitent l'utilisation des produits et réactifs suivants :

- Eau distillée
- Ethanol à 95°
- Solution aqueuse de potasse à 10 %

- Liquide de Marc-André préparé en mélangeant les quantités suivantes : eau distillée (30 ml), hydrate de chloral (40 g) et acide acétique cristallisable (30 ml).
- Gomme au chloral préparé à l'aide du mélange de : eau distillée (10 ml), hydrate de chloral (74 g), gomme arabique pulvérisée (8 g) et acide acétique cristallisable (3 ml).

Les phlébotomes sont versés dans une coupelle de cristal munie d'un couvercle dans laquelle s'effectueront toutes les manipulations.

L'alcool est soutiré à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une poire en caoutchouc, en prenant bien soin de ne pas aspirer les phlébotomes

Les bains successifs suivants sont ensuite effectués :

- 4 à 8 heures dans la solution de potasse à 10 % ;
- 6 bains, de 20 minutes chacun, dans l'eau distillée ;
- 1 heure minimum dans le liquide de Marc-André. Une conservation prolongée des spécimens dans ce liquide ne présente pas d'inconvénient.

Cette étape est obligatoire. Son but est de faciliter l'observation des structures internes des phlébotomes qui sont des insectes fragiles pourvus de nombreuses soies utiles à la diagnose.

Deux types de montage sont possibles : le montage rapide dans la gomme au chloral et le montage dans le baume du Canada.

Dissection et identification

Chaque échantillon est identifié d'après les critères habituels, en se basant sur la clé de détermination des phlébotomes

Le phlébotome est déposé en position latérale dans une goutte de gomme au chloral déposée sur une lame. La tête est détachée du reste du corps à l'aide de fines aiguilles

Les pattes sont soigneusement étalées du côté ventral et les ailes du côté dorsal.

Quand il s'agit d'un spécimen mâle, l'armature génitale est disposée selon son orientation chez l'insecte en prenant soin de mettre en évidence les différents éléments nécessaires à la diagnose spécifique : édéage, coxite, style,...

Quand il s'agit d'un spécimen femelle, la dissection du génitalia est parfois nécessaire pour montrer certaines structures internes utilisées pour la diagnose spécifique.

La préparation est ensuite recouverte d'une lamelle. Une légère pression permet de mettre les tissus à observer à plat, position la plus favorable à l'observation microscopique