

Fièvre jaune

Manuel

Évaluation entomologique rapide sur le terrain pendant les épidémies de fièvre jaune en Afrique



Orientations méthodologiques à l'usage des scientifiques
ayant des connaissances de base en entomologie



Organisation
mondiale de la Santé

Fièvre jaune

Évaluation entomologique rapide sur le terrain pendant les épidémies de fièvre jaune en Afrique

Manuel

**Orientations méthodologiques
à l'usage des scientifiques ayant des connaissances de base en entomologie**



**Organisation
mondiale de la Santé**

© Organisation mondiale de la Santé 2014

Tous droits réservés. Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé sont disponibles sur le site Web de l'OMS (www.who.int) ou peuvent être achetées auprès des éditions de l'OMS, Organisation mondiale de la Santé, 20 avenue Appia, 1211 Genève 27 (Suisse) (téléphone : +41 22 791 3264 ; télécopie : +41 22 791 4857 ; courriel : bookorders@who.int . Les demandes relatives à la permission de reproduire ou de traduire des publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées aux éditions de l'OMS via le site Web de l'OMS à l'adresse http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les traits discontinus formés d'une succession de points ou de tirets sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

La présente publication exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts et ne représente pas nécessairement les décisions ni les politiques de l'Organisation mondiale de la Santé.

Conception et mise en page par ACID-Solutions, France

Les photos ont été fournies par le docteur Mawlouth Diallo et M. Cheikh Tidiane Diagne.

Table des matières

| | |
|---|------------|
| Remerciements | vii |
| Acronymes et abréviations | ix |
| Introduction | 1 |
| 1 Considérations générales sur la fièvre jaune | 3 |
| 1.1 Les vecteurs de la fièvre jaune en Afrique | 3 |
| 1.2 Bioécologie et répartition géographique des vecteurs | 4 |
| 1.2.1 Groupe <i>Aedes africanus</i> | 4 |
| 1.2.2 <i>Aedes luteocephalus</i> | 4 |
| 1.2.3 Groupe <i>Aedes simpsoni</i> | 4 |
| 1.2.4 <i>Aedes bromeliae</i> | 5 |
| 1.2.5 <i>Aedes lillii</i> | 5 |
| 1.2.6 <i>Aedes aegypti</i> | 5 |
| 1.2.7 Groupe <i>Aedes (Diceromyia) furcifer/ taylori</i> | 5 |
| 1.2.8 <i>Aedes (Aedimorphus) vittatus</i> | 6 |
| 1.3 Les cycles de transmission de la fièvre jaune | 6 |
| 1.4 Conséquences épidémiologiques des cycles de transmission | 7 |
| 1.4.1 Le cycle sylvatique | 7 |
| 1.4.2 Le cycle rural | 7 |
| 1.4.3 Le cycle urbain | 7 |
| 1.5 Prévenir et combattre la fièvre jaune | 8 |
| 1.5.1 Combattre les stades immatures | 9 |
| 1.5.2 Combattre les stades adultes | 9 |
| 2 Les grandes lignes d'une investigation entomologique | 11 |
| 2.1 Finalité et application | 11 |
| 2.1.1 Vaccination de masse | 11 |
| 2.1.2 Lutte anti vectorielle | 11 |
| 2.2 Préparation et organisation | 12 |
| 2.3 Objectifs spécifiques | 12 |
| 3 Mise en œuvre d'une investigation entomologique | 13 |
| 3.1 Paramètres déterminants pour le choix des sites d'étude | 13 |
| 3.1.1 Épidémiologie | 13 |
| 3.1.2 Aspects virologiques | 13 |
| 3.2 Prospection à la recherche des stades immatures | 13 |
| 3.2.1 Stades aquatiques : larves et nymphes | 14 |
| 3.2.2 Stades aquatiques : œufs | 21 |
| 3.2.3 Trous d'arbres et autres gîtes larvaires naturels | 22 |
| 3.3 Prospection à la recherche des stades adultes | 23 |
| 3.3.1 Objet | 23 |
| 3.3.2 Matériel et installations de base | 23 |
| 3.3.3 Mode opératoire | 23 |

| | | |
|-----------------|--|-----------|
| 3.4 | Recherche du virus amaril chez les moustiques vecteurs | 28 |
| 3.4.1 | Broyage des échantillons de moustiques | 28 |
| 3.4.2 | Extraction de l'ARN | 28 |
| 3.4.3 | PCR en temps réel pour la recherche du virus amaril | 28 |
| 3.5 | Étude de la compétence vectorielle | 28 |
| 3.5.1 | Choix des souches de moustiques | 28 |
| 3.5.2 | Choix des souches virales et préparation de la suspension virale stock | 29 |
| 3.5.3 | Marche à suivre expérimentale | 29 |
| 3.5.4 | Analyse des données | 30 |
| 3.6 | Détermination de la sensibilité des vecteurs aux insecticides | 30 |
| 4 | Budget prévisionnel de l'investigation | 31 |
| | Bibliographie | 33 |
| Annexe 1 | Formulaire pour le compte rendu du prototypage des stades aquatiques | 35 |
| Annexe 2 | Récapitulatif de l'investigation sur la population de moustiques | 36 |
| Annexe 3 | Formulaire pour l'enregistrement des moustiques regroupés par lots | 37 |
| Tableaux | | |
| Tableau 1 | Espèces africaines de moustiques vecteurs du virus amaril | 3 |
| Tableau 2 | Vecteurs impliqués dans les trois cycles de transmission | 7 |
| Tableau 3.1 | Budget personnel | 31 |
| Tableau 3.2 | Budget fournitures | 31 |
| Tableau 3.3 | Budget transports | 32 |
| Tableau 3.4 | Budget communication | 32 |
| Figures | | |
| | Diagramme décrivant les différents cycles de transmission, leurs caractéristiques et leurs conséquences épidémiologiques | 8 |
| Figure 1 | Sites de reproduction du <i>Aedes aegypti</i> dans l'environnement péri-domestique | 15 |
| Figure 2 | Sites de reproduction du <i>Aedes aegypti</i> dans l'environnement domestique | 16 |
| Figure 3 | Différentes étapes pour la prospection des stades immatures et insectarium | 18 |
| Figure 4 | Typologie des récipients pleins et positifs (récipients domestiques) | 19 |
| Figure 5 | Typologie des récipients pleins et positifs (récipients jetés) | 19 |
| Figure 6 | Typologie des récipients pleins et positifs dans la localité 2 | 20 |
| Figure 7 | Typologie des récipients pleins et positifs dans la localité 1 | 20 |
| Figure 8 | Piège-pondoir pour la récolte des oeufs | 22 |
| Figure 9 | Capture sur appât humain | 24 |
| Figure 10 | Méthodes de piégeage des moustiques | 26 |
| Figure 11 | Capture des moustiques par pulvérisations | 27 |
| Figure 12 | Aspiration des moustiques adultes au repos | 27 |

Remerciements

Nous souhaitons remercier l'Alliance mondiale pour les vaccins et la vaccination du soutien qu'elle nous a apporté sur le plan financier ainsi que le Dr Mawlouth Diallo, entomologiste spécialiste de la fièvre jaune au Service d'entomologie médicale de l'Institut Pasteur de Dakar (Sénégal) qui nous a aidés à préparer, à rédiger et à réviser le présent document.

Le Dr Sergio Yactayo a coordonné la production du document en collaboration avec des entomologistes de terrain.

Des remerciements sont également dus à nos collègues William Perea et Véronique Millot du Siège de l'Organisation mondiale de la Santé, pour leur aide et leur contribution sur le plan technique, ainsi qu'à Ricardo Lorenço de Oliveira et à la Fondation Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Des publications sur les pandémies et les épidémies sont disponibles en ligne sur le site www.who.int/csr/resources/publications.

Acronymes et abréviations

| | |
|--------------------|--|
| ARN | acide ribonucléique |
| BG-Sentinel | Biogents Sentinel |
| CDC ¹ | Centres pour le contrôle et la prévention des maladies |
| COMBI ² | Communication pour agir sur les comportements |
| DDT | dichlorodiphényl-trichloréthane |
| FJ | fièvre jaune |
| IgM | immunoglobuline M |
| OMS | Organisation mondiale de la Santé |
| OPS | Organisation panaméricaine de la Santé |
| PCR | réaction d'amplification en chaîne par la polymérase |
| PBS | solution saline tamponnée au phosphate |
| QIAmp® | kit d'extraction d'ARN |
| VFJ | virus de la fièvre jaune (ou virus amaril) |

¹ Centers for Disease Control and Prevention

² Communication for Behavioural Impact

Introduction

La fièvre jaune est l'une des plus importantes maladies hémorragiques virales transmises à l'Homme par des moustiques. En Afrique, ses principaux vecteurs sont les moustiques du genre *Aedes* et elle représente un sérieux problème de santé publique sur ce continent ainsi d'ailleurs qu'en Amérique centrale et en Amérique du Sud. Bien qu'il existe un vaccin très efficace, la fièvre jaune réapparaît depuis quelques décennies en Afrique (Reiter et al., 1993 ; Thonnon et al., 1998 ; Onyango et al., 2004a, 2004b ; Ellis & Barrett, 2008 ; Gould et al., 2008), avec des flambées urbaines en augmentation en Afrique. L'accroissement de la circulation du virus dans la population humaine non immune - ainsi que son extension géographique - a été tout à fait déconcertante, avec de multiples flambées se produisant simultanément en plusieurs endroits.

Le meilleur moyen de détecter ces flambées suffisamment tôt reste la surveillance. Le système de surveillance qui est actuellement en place dans presque tous les pays d'Afrique ne porte que sur la composante humaine et repose sur un examen clinique à la recherche d'un ictère, sur le prélèvement d'échantillons de sang et sur la recherche d'immunoglobulines M (IgM) par les laboratoires nationaux avec confirmation par un laboratoire régional. Cette façon de procéder, bien que vivement recommandée, reste limitée car elle ne donne souvent l'alerte que lorsque la transmission de la maladie est déjà bien en place dans la communauté. C'est sans doute trop tard pour une maladie comme la fièvre jaune qui se caractérise par une proportion importante de cas asymptomatiques.

De manière à faire face sans délai aux flambées qui éclatent en milieu urbain ou rural, il est essentiel de procéder à une investigation comportant une enquête entomologique afin de déterminer avec précision quelle sont les meilleures façons d'intervenir et d'indiquer ensuite aux décideurs s'il y a lieu d'organiser une campagne de vaccination de masse et/ou de contrôle vectoriel et avec quel degré d'urgence.

L'enquête entomologique inclut des informations préalables sur les vecteurs de la fièvre jaune : identification des espèces sensibles parmi les populations de vecteurs, estimation de leur densité et étude de leur comportement, afin de déterminer à quel type de cycle de transmission et d'infection virale des moustiques on a affaire. Ce genre d'étude nécessite une certaine connaissance de l'entomologie et de ses méthodes, que l'on ne trouve pas toujours dans certaines régions de l'Afrique. Des entomologistes peuvent avoir une très bonne connaissance des maladies à transmission vectorielle, mais portant plus spécifiquement sur d'autres maladies comme le paludisme, la trypanosomiase ou l'onchocercose. L'investigation de ces maladies est sensiblement différente sur le plan entomologique ; elle ne nécessite pas la détermination d'un indice de densité vectorielle et les espèces en cause sont mieux connues et caractérisées que celles qui transmettent la fièvre jaune.

Le présent manuel a été rédigé dans un esprit pratique. Il donne des orientations méthodologiques pour le travail sur le terrain au niveau central ou périphérique dont tout scientifique ayant des connaissances de base en entomologie peut s'inspirer pour préparer et effectuer une évaluation entomologique lors des épidémies de fièvre jaune.

1 Considérations générales sur la fièvre jaune

1.1 Les vecteurs de la fièvre jaune en Afrique

Sur le plan épidémiologique, les moustiques impliqués dans la transmission du virus amaril peuvent être classés comme suit :

- Moustiques qui sont associés à la fièvre jaune dans leur milieu naturel mais sans qu'on ait la preuve de leur compétence en tant que vecteurs.
- Moustiques dont la compétence vectorielle est prouvée, mais dont l'association avec le virus amaril n'a jamais été effective dans leur milieu naturel.
- Moustiques associés au virus amaril dans leur milieu naturel et dont l'aptitude à transmettre le virus a été prouvée expérimentalement.

Le tableau 1 indique les espèces africaines de moustiques vecteurs du virus amaril dont on a constaté l'infection naturelle et/ou dont la compétence vectorielle a pu être prouvée en laboratoire (Reed, 1901 ; Bauer, 1928 ; Philip, 1930 ; Lewis et al., 1942). Presque toutes les espèces de moustiques impliquées dans la transmission du virus amaril appartiennent au genre *Aedes* et plus particulièrement aux sous-genres *Stegomyia* et *Diceromyia*. *Ae. vittatus* est la seule espèce du genre *Aedes* impliquée dans la transmission du virus amaril qui appartienne au sous-genre *Aedimorphus*. Parmi les espèces du genre *Aedes*, seules huit peuvent être considérées comme des vecteurs avérés de la fièvre jaune. On a montré que les principaux vecteurs impliqués dans les épidémies de fièvre jaune étaient *Ae. aegypti*, *Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. bromeliae*, *Ae. furcifer* et *Ae. taylori*. *Ae. vittatus*, *Ae. metallicus*, *Ae. opock* et *Ae. neoafricanus* ont tendance à jouer un rôle secondaire, tandis que les autres espèces du sous-genre *Aedimorphus* et du genre *Eretmapodites* ne jouent qu'un rôle accessoire. Le rôle des espèces appartenant aux genres *Culex*, *Mansonia*, et *Coquillettidia* n'est pas confirmé.

Tableau 1 Espèces africaines de moustiques vecteurs du virus amaril

| Espèce | Infection naturelle (in vivo) | Compétence au laboratoire (in vitro) |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Stegomyia) africanus</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Diceromyia) taylori</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Diceromyia) furcifer</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Stegomyia) luteocephalus</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Stegomyia) simpsoni</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Aedimorphus) vittatus</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Stegomyia) metallicus</i> | Oui | Oui |
| <i>Aedes (Stegomyia) opock</i> | Oui | NP |
| <i>Aedes (Stegomyia) neoafricanus</i> | Oui | NP |
| <i>Aedes (Stegomyia) pseudoafricanus</i> | NP | Oui |
| <i>Aedes (Stegomyia) keniensis</i> | Oui | NP |
| <i>Aedes (Stegomyia) bromeliae</i> | Oui | NP |
| <i>Coquillettidia fuscopennata</i> | Oui | NP |
| <i>Aedes (Aedimorphus) dentatus</i> | Oui | NP |
| <i>Aedes (Aedimorphus) stockesi</i> | Oui | NP |
| <i>Aedes (Stegomyia) gr. tarsalis</i> | Oui | NP |
| <i>Eretmapodites inornatus</i> | Oui | NP |
| <i>Eretmapodites gr. chrysogaster</i> | Oui | Oui |
| <i>Eretmapodites quinquevittatus</i> | NP | Oui |
| <i>Culex (Culex) thalassius</i> | NP | Oui |
| <i>Culex (Culex) pipiens</i> | NP | Oui |
| <i>Mansonia (Mansonioides) africana</i> | NP | Oui |

NP : non prouvée.

1.2 Bioécologie et répartition géographique des vecteurs

Des études bioécologiques ont été effectuées sur chacune des espèces de la liste. Les principaux vecteurs du virus amaril sont examinés dans les sections suivantes.

1.2.1 Groupe *Aedes africanus*

Le groupe *Aedes africanus* est en fait un complexe constitué de quatre espèces jumelles : *Ae. africanus*, *Ae. neoafricanus*, *Ae. opock* et *Ae. pseudoafricanus*, que l'on ne distinguait pas auparavant (Huang, 1990).

Ae. africanus se rencontre dans les zones forestières, mais on peut aussi le trouver dans les forêts galeries des zones de savane. Cette espèce est abondante en Afrique centrale et en Afrique de l'Est mais son aire de répartition est davantage localisée en Afrique de l'Ouest. Elle est primatophile et très agressive pour l'Homme. Ce moustique pique préférentiellement au niveau de la canopée mais il peut également attaquer au niveau du sol. Il est actif au crépuscule mais peut l'être également dans la journée si des sujets humains pénètrent dans son habitat – « effet d'intrusion ». Son rôle dans la transmission en forêt vierge a été décrit en 1948 en Ouganda (Smithburn et al., 1949) et confirmé dans plusieurs contextes géographiques. Il a pour trait distinctif d'être confiné au milieu forestier et ne se rencontre que rarement dans l'environnement domestique. Un tel comportement est de nature à limiter l'action d'*Ae. africanus* à la production de cas sporadiques de fièvre jaune.

Les autres espèces du groupe ont des caractéristiques bioécologiques similaires à celles d'*Ae. africanus*. Toutefois, *Ae. opock* pourrait être considéré comme un important vecteur de la fièvre jaune en Afrique centrale en raison de sa forte densité, qui dépasse parfois celle d'*Ae. africanus* (Hervé et al., 1977). Quant à *Ae. neoafricanus* et à *Ae. pseudoafricanus*, bien qu'ils interviennent dans le cycle de transmission sauvage, ils ne jouent guère qu'un rôle mineur en raison de leur rareté (Smithburn et al., 1949).

1.2.2 *Aedes luteocephalus*

Aedes luteocephalus est une autre espèce du sous-genre *Stegomyia*, similaire, sur le plan morphologique, aux espèces du groupe *Ae. africanus*. C'est un moustique simioanthropophile, qui est actif au crépuscule et prend ses repas de sang dans la canopée mais peut aussi piquer occasionnellement au niveau du sol. Cette espèce est abondante en forêt et peut être présente dans de très rares cas dans des villages situés aux abords de la forêt. C'est l'un des principaux vecteurs de la fièvre jaune en Afrique de l'Ouest et son rôle dans plusieurs épidémies a été confirmé (Lee & Moore, 1972).

1.2.3 Groupe *Aedes simpsoni*

Pendant des années, on a considéré que le Groupe *Aedes simpsoni* présentait une large répartition géographique en Afrique. Toutefois, des études récentes ont révélé des divergences comportementales dans divers contextes géographiques, ce qui plaide en faveur de l'existence d'un groupe d'espèces similaires sur le plan morphologique (Huang, 1986a). Ces études subdivisent le groupe *simpsoni* en trois espèces jumelles : *Ae. simpsoni*, *Ae. bromeliae* et *Ae. lillii*. Le rôle respectif de chacune de ces espèces dans la transmission du virus de la fièvre jaune a également été clarifié. Elles sont abondantes en forêt ainsi que dans la zone de transition entre forêt et savane (écotone) où les précipitations sont importantes. En milieu forestier, elles sont présentes toute l'année, alors qu'en zone préforestière, leur activité est saisonnière.

On a longtemps considéré *Ae. simpsoni* comme un important vecteur de la fièvre jaune, notamment en Afrique de l'Est, comme cela ressort du tableau dressé par Haddow et al. (1968). Il est maintenant reconnu qu'*Ae. bromeliae* avait été confondu avec *Ae. simpsoni*. En fait, il semble qu'*Ae. simpsoni* soit présent en Afrique du Sud et au Zimbabwe. Il n'intervient pas dans la transmission du virus amaril à l'Homme en raison de ses tendances zoophiles. *Ae. simpsoni* se reproduit dans des gîtes larvaires sylvestres (feuilles de végétaux et trous d'arbres).

1.2.4 *Aedes bromeliae*

Aedes bromeliae, la seule espèce du groupe qui soit impliquée dans la transmission de la fièvre jaune, est présente dans plusieurs pays d'Afrique, mais elle fait preuve de variations comportementales importantes qui pourraient influencer sur son statut de vecteur selon le contexte géographique. Ce moustique est le principal vecteur de la fièvre jaune en Afrique de l'Est ; il existe des signes de son association avec le virus de la fièvre jaune dans le milieu naturel et il s'agit en outre d'un vecteur abondant, anthropophile quant à ses préférences trophiques. En Afrique centrale, on le soupçonne de transmettre le virus amaril car il vit en interaction étroite avec l'Homme. Dans cette partie du continent, ce moustique est particulièrement agressif l'après-midi, mais il peut également piquer au crépuscule et tôt le matin. Sa présence est signalée en Afrique de l'Ouest mais il ne semble pas y jouer de rôle dans la transmission de la fièvre jaune à l'Homme en raison de ses tendances zoophiles. Cette espèce partage les mêmes gîtes larvaires naturels qu'*Ae. simpsoni* (feuilles de végétaux, trous d'arbres, coques de fruits, etc.), mais en Afrique de l'Est, il utilise aussi les récipients qu'il peut trouver dans l'environnement domestique et périodestique.

Ces éléments nouveaux permettent de clarifier le cycle de Haddow, auquel il faut apporter quelques corrections – notamment la nécessité de substituer *Ae. bromeliae* à *Ae. simpsoni* en Afrique de l'Est.

1.2.5 *Aedes lillii*

Il semble que la répartition géographique d'*Ae. lillii* soit limitée à l'Afrique de l'Est. Cette espèce ne semble pas intervenir dans la transmission du virus amaril dans cette région du continent du fait qu'elle ne pique pas l'Homme et que ses gîtes larvaires se trouvent en forêt.

1.2.6 *Aedes aegypti*

Il existe deux sous-espèces d'*Aedes aegypti* qui se distinguent par leurs caractéristiques écologiques et comportementales. *Aedes aegypti aegypti*, qui constitue la forme domestique et périodestique présente dans les zones urbaines tropicales, dérive, semble-t-il, d'*Ae. aegypti formosus*, la forme africaine ancestrale qui se reproduit dans les trous d'arbres. Des études antérieures ont montré qu'*Aedes aegypti aegypti* est présent en Asie et dans le Nouveau Monde, alors qu'en Afrique on rencontre les deux sous-espèces, mais avec une répartition d'*Aedes aegypti aegypti* limitée à la côte orientale de l'Afrique (Tabachnik & Powell, 1979 ; Powell et al., 1980).

La présence d'*Aedes aegypti aegypti* en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale reste débattue – principalement en raison de l'absence de méthodes fiables pour distinguer les différentes sous-espèces. Les clés de détermination morphologiques dont on dispose actuellement ne sont pas suffisamment précises pour permettre de distinguer *Ae. aegypti aegypti* d'*Ae. aegypti formosus* ou les formes intermédiaires.

Malgré la controverse taxonomique, nous pouvons considérer que dans toute l'Afrique, il existe au moins deux populations différentes d'*Ae. aegypti*, sur la base de leurs caractéristiques bionomiques :

- Une sous-population domestique anthropophile qui pique pendant la journée – surtout en fin d'après-midi – et qui utilise des réceptacles artificiels (récipients pour le stockage de l'eau, boîtes de conserve, vieux pneus, récipients abandonnés, etc.) pour se reproduire. En raison du caractère artificiel de ces gîtes larvaires, cette sous-population d'*Ae. aegypti* est présente toute l'année.
- Une sous-population sauvage zoophile, qui se reproduit dans des habitats naturels (creux de rochers, trous d'arbres, coques de fruits, etc.).

1.2.7 Groupe *Aedes (Diceromyia) furcifer/taylori*

On considérait au début que le Groupe *Aedes (Diceromyia) furcifer/taylori* était constitué de deux espèces : *Ae. taylori* et *Ae. furcifer* (Ferrara et al., 1984). Récemment, on a subdivisé *Ae. furcifer* en deux espèces : *Ae. furcifer* ss. et *Ae. cordellieri* (Huang, 1986b ; Jupp, 1998). Les trois espèces sont présentes en Afrique de l'Ouest, en Afrique centrale et en Afrique du Sud, mais seules *Ae. furcifer* et *Ae. taylori* semblent bien établies en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale. *Ae. cordellieri* est la seule espèce de ce groupe qui soit présente en Afrique de l'Est.

Ces espèces partagent un certain nombre de caractéristiques bioécologiques. Elles sont absentes des zones de forêt mais bien représentées en terrain ouvert dans les zones de savane. Leurs gîtes larvaires sont naturels et constitués de trous d'arbres, de bambous, de fruits, etc. Ce sont des espèces simio-anthropophiles et leur agressivité culmine au crépuscule.

Ae. furcifer est la seule espèce du groupe qui soit active dans les villages situés en bordure de forêt. Ce comportement lui confère une responsabilité très importante dans les cycles de transmission domestiques. *Ae. taylori* et *Ae. cordellieri* restent confinés dans leur habitat sauvage.

1.2.8 *Aedes (Aedimorphus) vittatus*

Aedes (Aedimorphus) vittatus est la seule espèce du sous-genre *Aedimorphus* qui soit impliquée dans la transmission du virus amaril. On a constaté qu'*Ae. vittatus* est associé au virus amaril dans son milieu naturel et on a démontré expérimentalement qu'il est capable de le transmettre (Lewis et al., 1947). Il est néanmoins considéré comme un vecteur accessoire car on est très mal renseigné sur son implication dans des épidémies de fièvre jaune. On ne l'a mis en cause que dans l'épidémie qui s'est produite au Soudan en 1940 (Kirk, 1941) mais on le soupçonne d'avoir joué un rôle accessoire dans les flambées qui ont éclaté sur le plateau de Jos au Nigéria en 1959 et 1969 (Lee & Moore, 1972). Cette espèce présente une dynamique saisonnière marquée avec un pic précoce de densité au début de la saison des pluies, ce qui donne à penser qu'elle n'intervient guère dans le cycle de transmission sylvatique puisque le virus ne tend à apparaître que vers la fin de cette saison. *Ae. vittatus* est une espèce de savane qui abonde dans les zones rocheuses. Elle est particulièrement présente dans les forêts galeries d'Afrique de l'Ouest mais se rencontre aussi communément dans les villages situés à proximité de la forêt. Les femelles ont une activité à la fois diurne et nocturne avec un pic important au crépuscule. Elles attaquent toutes sortes d'hôtes vertébrés avec une forte tendance à l'anthropophilie dans certains lieux.

1.3 Les cycles de transmission de la fièvre jaune

Jusqu'en 1928, on considérait que l'épidémiologie de la fièvre jaune ne comportait qu'un seul cycle de transmission impliquant *Ae. aegypti* et l'Homme comme seul hôte vertébré. Cette conception a toutefois changé lorsqu'on a montré que d'autres moustiques qu'*Ae. aegypti* pouvaient intervenir dans le cycle de transmission et que les singes étaient également sensibles à l'infection (Bauer, 1928 ; Stokes et al., 1928). Deux observations effectuées en Amérique du Sud sont venues corroborer l'existence d'un tel cycle sylvatique : 1) on a établi l'existence d'une mortalité anormale dans la population simienne au cours des flambées de fièvre jaune et 2) des flambées rurales de fièvre jaune ont éclaté en 1933 au Brésil en l'absence d'*Ae. aegypti* (Soper et al., 1933). De plus, des investigations menées pendant plusieurs années en milieu forestier ont démontré l'existence d'une association naturelle entre le virus amaril et des espèces de moustiques comme *Ae. simpsoni* et *Ae. africanus* en Afrique de l'Est, et *Ae. aegypti* en Afrique de l'Ouest, pendant et entre les épidémies.

Le premier cycle de transmission du virus amaril attesté en Afrique l'a été en Afrique de l'Est (Haddow, 1968). Ce mécanisme comporte un cycle sylvatique impliquant le groupe *Ae. africanus* et des singes ainsi qu'un cycle rural impliquant *Ae. aegypti* dans des villages situés en lisière de forêt.

La découverte de nouveaux vecteurs et les données bioécologiques obtenues après plusieurs années d'étude ont conduit à modifier quelque peu ce mécanisme en reconnaissant l'existence de trois cycles de transmission plutôt qu'un cycle unique : un cycle sylvatique, un cycle rural ou intermédiaire et un cycle urbain (Germain et al., 1981 ; Cordellier, 1991).

Le cycle sylvatique ne fait intervenir que des moustiques sauvages qui transmettent le virus d'une population de vertébrés à l'autre, entre singes par exemple. Des sujets humains peuvent être infectés s'ils empiètent sur le milieu forestier ou sur l'espace ouvert (écotone) avoisinant. Ce cycle se caractérise par l'intervention de vecteurs sylvestres qui utilisent des gîtes larvaires naturels (trous d'arbres, bambous, fruits) et dont les habitudes trophiques et l'agressivité sont tournées vers les populations simiennes et humaines, tant au niveau du sol que dans la canopée.

Sur le plan écogéographique, ce cycle est lié au milieu forestier où le virus amaril est endémique. Dans ces zones, le virus circule continuellement et silencieusement entre les populations de moustiques et de singes. Il peut circuler tout au long de l'année car les conditions climatiques restent favorables à l'activité des moustiques. Dans ce cas, c'est le moustique qui joue le rôle de réservoir et qui maintient la présence du virus par transmission verticale (Cornet et al., 1979 ; Fontenille et al., 1997). Le cycle sylvatique ne comporte qu'assez rarement des infections humaines.

Le cycle rural, connu sous le nom « d'épidémie de type intermédiaire » fait intervenir *Ae. aegypti* ainsi que des vecteurs sylvestres actifs dans l'environnement domestique et péri-domestique de villages et autres établissements humains en milieu rural. Des espèces telles qu'*Ae. furcifer*, *Ae. vittatus*, *Ae. bromeliae* et *Ae. keniensis* vont et viennent entre les villages et la forêt et piquent parfois l'Homme.

Des espèces comme *Ae. luteocephalus* ou *Ae. metallicus* ne jouent qu'un rôle occasionnel en raison de leur petit nombre.

Les flambées qui prennent leur origine dans le cycle rural sont associées à une zone géographique appelée « zone d'émergence » qui couvre les limites de la forêt, la forêt mosaïque, la savane, les forêts galeries, la savane humide et dans une certaine mesure, la savane sèche. Ces zones se caractérisent par d'importantes variations climatiques consistant dans l'alternance de saisons sèches et de saisons des pluies. Des espèces comme *Ae. luteocephalus*, *Ae. furcifer*, *Ae. taylori* et *Ae. bromeliae* y sont très abondantes. Elles piquent au niveau de la canopée et du sol et peuvent se disperser sur de longues distances le long des forêts galeries. Dans certains secteurs, les singes tels que babouins, singes rouges (patas) ou singes verts sont abondants et peuvent se déplacer sur de grandes distances, de sorte qu'ils jouent un rôle capital dans la propagation du virus. Ils peuvent également introduire le virus dans l'environnement humain lors d'incursions dans les zones agricoles.

Le cycle urbain ou « épidémie urbaine » n'implique qu'un seul vecteur – à savoir la forme domestique ou péri-domestique d'*Ae. aegypti*. Ce cycle ne comporte pas de vecteurs sylvestres. Les zones géographiques ou écologiques associées à ce type d'épidémie sont la savane sèche et le Sahel. Ce sont généralement des sujets humains infectés venant de la zone d'émergence qui sont responsables de l'introduction du virus. Dans ces secteurs où l'eau est rare et difficile d'accès, les habitants ont tendance à faire des provisions d'eau pour de longues périodes, de sorte que des gîtes larvaires d'*Ae. aegypti* y sont communément présents.

Le tableau 2 récapitule les espèces de moustiques impliquées dans ces trois cycles de transmission.

Tableau 2 Vecteurs impliqués dans les trois cycles de transmission

| Cycle | Vecteurs en cause | Vecteurs ayant un rôle occasionnel |
|------------|---|---|
| Sylvatique | <i>Ae. africanus</i> , <i>Ae. furcifer</i> , <i>Ae. taylori</i> , <i>Ae. luteocephalus</i> , <i>Ae. opock</i> | <i>Ae. neoafricanus</i> , <i>Ae. simpsoni</i> , <i>Ae. vittatus</i> , <i>Ae. metallicus</i> |
| Rural | <i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. furcifer</i> , <i>Ae. vittatus</i> , <i>Ae. bromeliae</i> , <i>Ae. keniensis</i> | <i>Ae. luteocephalus</i> , <i>Ae. metallicus</i> |
| Urbain | <i>Ae. aegypti</i> | |

1.4 Conséquences épidémiologiques des cycles de transmission

Une fois que l'on a établi la nature du cycle de transmission, il est plus facile de gérer une flambée de fièvre jaune car on peut mettre en œuvre des stratégies de lutte adaptées à chaque contexte. Le diagramme en page 8 récapitule les différents cycles et les mesures correspondantes.

1.4.1 Le cycle sylvatique

Plusieurs vecteurs interviennent dans le cycle sylvatique. La lutte antivectorielle n'est pas possible en tant que telle. Les singes sont les principaux hôtes vertébrés en cause. Des sujets humains peuvent être infectés accidentellement mais uniquement sous la forme de cas sporadiques. Comme dans le cas du cycle rural, on ne peut pas maîtriser la propagation du virus au cours du cycle sylvatique, mais les épidémies sont rares.

1.4.2 Le cycle rural

Plusieurs vecteurs sont mis en cause dans le cycle de transmission rural, et notamment le moustique domestique *Ae. aegypti* et divers vecteurs sylvestres. Dans le cas du cycle rural, il est difficile de maîtriser complètement la propagation du virus car les singes qui sont impliqués dans ce cycle peuvent se déplacer sur une zone étendue. La vaccination de masse est la meilleure option pour éviter la transmission du virus.

1.4.3 Le cycle urbain

Dans le cas du cycle urbain, un seul et unique vecteur, *Ae. aegypti*, est responsable de la transmission. Les gîtes larvaires sont tous artificiels et peuvent donc être éliminés par destruction mécanique dans l'environnement domestique et péri-domestique. Pour éviter la transmission du virus amaril, il est capital de prendre des mesures d'aménagement de l'environnement et de sensibiliser la population au risque de fièvre jaune, notamment en lui faisant comprendre qu'il est dans son intérêt de conserver l'eau à l'intérieur des habitations.

L'être humain est le seul hôte vertébré impliqué dans le cycle urbain. En soi, la mise en place de mesures sanitaires dans le cadre du Règlement sanitaire international – par exemple en installant un cordon sanitaire à l'entrée et à la sortie des agglomérations urbaines et en obligeant les voyageurs à être vaccinés – pourrait permettre de mieux maîtriser le cycle urbain de transmission du virus amaril.

Diagramme décrivant les différents cycles de transmission, leurs caractéristiques et leurs conséquences épidémiologiques

| Cycle | Caractéristiques des composantes du cycle | | | | | Mesures | |
|-------------------|---|------------------------|--|----------------|-------------------------|---|--|
| | Types de moustiques | Gîtes larvaires | Zone d'activité | Hôte vertébré | Impact humain | Lutte antivectorielle | Vaccination |
| Sylvatique | Sauvages | Naturels | Forestière | Singe Homme | Cas sporadiques | Irréaliste | Seule méthode de lutte |
| | Afrique de l'Ouest : <i>Ae. fuscifer</i> , <i>Ae. taylori</i> , <i>Ae. luteocephalus</i> Afrique centrale : <i>Ae. africanus</i> , <i>Ae. opock</i> Afrique de l'Est : <i>Ae. africanus</i> | | | | | | |
| Rural | Sauvages | Naturels & Artificiels | Forestière Péridomestique Domestique | Singe Homme | Plusieurs cas humains | Possible sur gîtes larvaires artificiels Impossible sur gîtes larvaires naturels | Vastes campagnes car dissémination du virus non maîtrisée |
| | Afrique de l'Ouest : <i>Ae. fuscifer</i> , <i>Ae. aegypti</i> Afrique centrale : <i>Ae. africanus</i> , <i>Ae. aegypti</i> Afrique de l'Est : <i>Ae. bromeliae</i> , <i>Ae. keniensis</i> | | | | | | |
| Urbain | Domestique | Artificiels | Péridomestique Domestique | Homme | Grand nb de cas humains | Élimination des gîtes larvaires par aménagement environnemental et éducation de la population | Campagnes de masse dans les villes touchées et cordon sanitaire à l'entrée et à la sortie pour éviter la propagation |
| | Afrique de l'Ouest : <i>Ae. aegypti</i> Afrique centrale : <i>Ae. aegypti</i> Afrique de l'Est : <i>Ae. aegypti</i> | | | | | | |

Ae. : *Aedes* ; nb : nombre.

1.5 Prévenir et combattre la fièvre jaune

Il n'y a pas de traitement spécifique de la fièvre jaune. Un traitement symptomatique est la seule option et il est difficile à mettre en œuvre, notamment pendant les épidémies où les cas peuvent être nombreux.

En raison de l'absence de traitement, les mesures de santé publique pour le contrôle de la maladie reposent sur deux mesures préventives : la vaccination et la lutte antivectorielle.

Heureusement il existe un vaccin sûr et efficace qui constitue un outil très utile pour protéger une population et éviter l'apparition et la propagation d'une épidémie. Toutefois, la vaccination de masse est souvent difficile car :

- on ne dispose pas d'une quantité suffisante de vaccin (la production du vaccin ne permet pas de satisfaire les besoins de la population et le vaccin n'est distribué qu'en fonction du risque) ;
- dans les pays d'endémie, les campagnes de vaccination peuvent être onéreuses en termes de coûts de fonctionnement ;
- le vaccin ne doit pas être administré aux femmes enceintes ni aux enfants de moins de 6 mois.

Il est impossible de combattre les vecteurs sauvages par des mesures de lutte antivectorielle. Dans certaines circonstances cependant, des dispositions pratiques peuvent être prises pour combattre les populations de vecteurs présentes dans l'environnement domestique ou péridomestique, comme cela peut se faire en cas de transmission en milieu urbain.

L'Organisation panaméricaine de la Santé (OPS) a entrepris vers le milieu des années 1950 une campagne visant à éradiquer *Ae. aegypti* de l'hémisphère occidental en ayant recours au traitement pérfocal des gîtes larvaires de ce moustique par le dichlorodiphényl-trichloréthane (DDT). Des succès spectaculaires ont été enregistrés au début des années 1960, 22 pays s'étant déclarés débarrassés du vecteur (Kerr et al., 1964 ; Soper, 1965 ; Camargo, 1967). Maintenant que le DDT est abandonné depuis une trentaine d'années, l'Organisation mondiale de la Santé ainsi que de nombreux organismes de santé publique font campagne en faveur de la communication pour agir sur les comportements (COMBI) dans laquelle ils voient une méthode décisive pour faire échec à *Ae. aegypti*. Il s'agit, par des campagnes éducatives, d'inciter la communauté à éliminer les récipients infestés. Plusieurs méthodes novatrices de lutte contre *Ae. aegypti* sont activement étudiées :

- utilisation de bactéries parasites (*Wolbachia*) pour réduire la survie des vecteurs
- lâcher de mâles stérilisés par irradiation
- lâcher de mâles transgéniques porteurs d'un gène létal
- dissémination d'un régulateur de la croissance des insectes lors de la ponte des femelles.

Ces idées, bien que séduisantes sur le plan scientifique, sont complexes et font appel à des technologies de haut niveau ; elles peuvent se révéler d'une application difficile sur le terrain, notamment à grande échelle et dans des sociétés à faible revenu.

Les détails de la lutte antivectorielle sont variés et trop nombreux pour être exposés ici. Un certain nombre de mesures possibles sont indiqués dans les sections qui suivent.

1.5.1 Combattre les stades immatures

- Éliminer tous les gîtes larvaires potentiels, notamment –mais pas seulement– les récipients mis au rebut, les vieux pneus et les boîtes de conserve.
- Conseiller à la population de protéger les récipients où elle conserve son eau et de renouveler périodiquement cette eau après un rinçage rapide.
- Utiliser des larvicides biologiques ou chimiques (comme le téméphos ou *Bacillus thuringiensis*) qui ne sont pas toxiques pour les consommateurs aux doses recommandées.

1.5.2 Combattre les stades adultes

- Les moustiquaires (traitées ou non) bien qu'efficaces contre le vecteur du paludisme, ne peuvent pas protéger efficacement contre un virus véhiculé par des moustiques qui piquent principalement pendant la journée. L'utilisation de moustiquaires n'aurait donc qu'un effet limité et ne serait à recommander qu'aux patients présentant une infection amarile suspecte ou confirmée.
- Recours à des mesures de protection individuelle contre les piqûres de moustiques (utilisation de répulsifs, port de vêtements longs, etc.)
- Utilisation d'insecticides en pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent, pour le traitement pérfocal (tout autour des gîtes larvaires) et pour des fumigations dans les lieux affectés.

Malheureusement, si intéressants que soient ces moyens de lutte contre les vecteurs de la fièvre jaune, ils ont tous leurs inconvénients. Quelles que soient les techniques envisagées, la clé du succès réside dans une bonne connaissance des vecteurs potentiels, notamment de leur identité, de leur distribution, de leur abondance, de leur écologie, de leur comportement, de leur biologie et de leurs différents stades de développement.

2 Les grandes lignes d'une investigation entomologique

2.1 Finalité et application

Comme chaque fois qu'il faut faire face à une crise, le principal objectif de l'investigation entomologique en cas de flambées est d'évaluer le risque d'épidémie et d'aider au choix des méthodes de lutte les plus appropriées pour interrompre la transmission. En ce qui concerne la fièvre jaune, il est possible d'éviter une épidémie en vaccinant les populations vulnérables et/ou en luttant contre les vecteurs. Pour ces différentes façons de combattre la fièvre jaune, on peut tirer parti des résultats de l'investigation entomologique.

2.1.1 Vaccination de masse

Une investigation entomologique peut aider les décideurs à se prononcer sur l'opportunité et l'urgence d'une campagne de vaccination de masse. Vu les nombreuses demandes émises simultanément par différents pays, les décideurs doivent établir une stratégie de classement des pays ou des régions d'un pays donné, en fonction du niveau de risque. Pour ranger correctement les pays dans les différentes catégories de risque, les données de l'investigation entomologique sont très précieuses. Les informations nécessaires concernent l'identité des vecteurs, leur densité, les indices de risque épidémique, ainsi que le profil climatique des zones touchées. Il s'ensuit par exemple que des pays ou les régions d'un pays dont l'indice de risque épidémique est faible ne figureront sans doute pas sur la liste de priorité. De même, lorsque, dans des pays ou des régions dont les vecteurs sont adaptés à la saison des pluies, cette saison touche à sa fin, ces pays ou ces régions ne seront pas en tête des préoccupations. L'investigation entomologique peut également aider à la planification de la vaccination en identifiant les zones et les périodes à risque.

2.1.2 Lutte antivectorielle

Lorsqu'il s'avère nécessaire de lutter contre les vecteurs, un certain nombre de facteurs sont à prendre en considération, à savoir :

- Les espèces et les stades de développement à éliminer ;
- L'insecticide ou le larvicide à utiliser ;
- La formulation et le mode d'épandage ;
- Le lieu d'épandage (ce qui nécessite une bonne carte des gîtes larvaires et des zones à risque ainsi qu'une connaissance détaillée du comportement des vecteurs) ;
- La saison, la durée et la fréquence des traitements (ce qui nécessite une connaissance précise de la dynamique des espèces à détruire).

Par conséquent, seule une investigation entomologique bien conduite peut faciliter la caractérisation du vecteur et permettre de déterminer avec précision quelles sont les meilleures façons d'intervenir.

2.2 Préparation et organisation

Une bonne investigation entomologique nécessite de la préparation et les dispositions suivantes doivent être prises pendant la phase d'organisation :

- Définir la mission de l'investigation en partenariat avec les responsables du ministère de la santé et veiller à ce que le contexte, les objectifs spécifiques et les délais soient clairement indiqués ;
- Recueillir les données disponibles (publiées ou non) au sujet de l'épidémiologie et des vecteurs de la fièvre jaune dans la zone concernée afin d'établir une base de données cohérente ;
- Établir le protocole de l'investigation avec son contexte, ses objectifs, les zones à étudier, les activités à mener, les ressources humaines, le matériel et la logistique, la chronologie des activités , le budget et les résultats escomptés ;
- Examiner la mission de l'investigation entomologique avec les membres du comité local d'action contre les flambées afin d'assurer la faisabilité des activités ;
- Discuter avec le comité de la manière de rendre compte des résultats et soumettre le protocole d'investigation à l'approbation du comité d'éthique ;
- Désigner, en collaboration avec les membres du comité, les membres de l'équipe entomologique, qui doit comprendre un entomologiste, un technicien assistant et un guide. Le guide et le technicien assistant sont à recruter parmi les membres de la communauté locale ;
- Exposer le protocole des études à l'équipe entomologique et organiser une étude pilote à des fins de formation pratique.

2.3 Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de l'investigation entomologiques doivent être, au minimum, les suivants :

- Identifier les vecteurs et délimiter leurs secteurs d'activité
- Évaluer l'abondance des vecteurs dans les secteurs touchés
- Déterminer le mode de transmission
- Évaluer le risque actuel ainsi que le risque de propagation de l'épidémie à d'autres zones géographiques
- Aider les autorités à prendre les décisions qui permettront de mieux maîtriser le problème
- Former le personnel local

3 Mise en œuvre d'une investigation entomologique

Il y a plusieurs facteurs à prendre en considération lorsqu'on procède à une investigation entomologique, notamment le choix des sites d'étude, le mode de prospection et les lieux à prospecter ainsi que les méthodes de laboratoire. Ces facteurs sont abordés en détail dans ce qui suit.

3.1 Paramètres déterminants pour le choix des sites d'étude

Le choix des lieux où va se dérouler l'investigation doit reposer sur la documentation épidémiologique et virologique des cas cliniques de fièvre jaune, d'où la nécessité d'agir en collaboration avec les équipes compétentes dans ces disciplines.

3.1.1 Épidémiologie

Lorsqu'on procède au choix des lieux où va se dérouler l'investigation entomologique, les considérations d'ordre épidémiologique qui entrent en ligne de compte sont, entre autres :

- L'existence de cas de fièvre jaune – les localités où des cas de fièvre jaune sont signalés seront considérées comme prioritaires pour l'investigation entomologique ;
- L'immunité collective de la population – les localités où la couverture vaccinale anti-amaril et/ou la séroprévalence des anticorps anti-virus amaril (selon disponibilité) sont faibles seront prioritaires ;
- La connaissance des déplacements effectués par les patients peut renseigner sur l'origine possible de la contamination ou les lieux d'introduction. Il est également utile de déterminer quelles localités les patients souffrant de la fièvre jaune ont fréquenté pour des raisons professionnelles et de s'y rendre – notamment pour voir si des contacts ont pu avoir lieu avec le milieu forestier, par exemple pour des activités agricoles, pour l'élevage bovin, la chasse, le ramassage et la coupe de bois pour l'artisanat, la collecte de miel ou la cueillette de fruits. C'est particulièrement important dans les localités où la population a pu être exposée à un cycle de transmission de la fièvre jaune. De même, les villes où des cas ont été endémiques sont absolument à considérer comme des sources potentielles d'infection ;
- Il faut inclure dans l'investigation les communautés et les villes du voisinage pour identifier les zones où la fièvre jaune pourrait s'être propagée.

3.1.2 Aspects virologiques

Lors du choix des sites d'étude, il faudra prendre en considération la dynamique de la réplication virale ainsi que l'apparition d'anticorps chez les cas humains.

Pour établir une liste de priorité des lieux à investiguer, on se basera sur les informations disponibles au sujet des infections aiguës ; en effet, on aura davantage de chances de découvrir des moustiques infectés sur des sites où se trouvent des patients ou des primates non humains pour lesquels la PCR a donné un résultat positif ou chez qui on a isolé le virus (ce qui traduit une phase de virémie et la transmission actuelle du virus dans la zone). Cette investigation pourrait faciliter l'identification des espèces impliquées dans la transmission au cours de l'épidémie.

3.2 Prospection à la recherche des stades immatures

Les œufs, les larves et les nymphes constituent les stades immatures du cycle évolutif des moustiques. On les désigne habituellement sous le nom de « stades aquatiques », bien que les œufs des moustiques vecteurs de la fièvre jaune ne soient pas toujours pondus directement à la surface de l'eau. En fait, ces œufs sont plutôt pondus sur les berges des étendues d'eau. Ils sont capables de résister à la dessiccation et restent viables toute l'année – parfois même dans des environnements extrêmement secs.

Il faut donc être particulièrement attentif, lors de l'investigation d'une épidémie, non seulement aux milieux aquatiques susceptibles d'abriter des larves et des nymphes, mais aussi à tous les autres endroits qui pourraient constituer des niches pour les œufs de moustiques. N'importe quelle technique peut être utilisée pour collecter ces stades.

3.2.1 Stades aquatiques : larves et nymphes

Objet

- Identifier les vecteurs et évaluer indirectement la densité des adultes.
- Déterminer les types de gîtes larvaires utilisés par ces vecteurs.
- Utiliser les données pour évaluer le risque d'épidémie.
- Se baser sur les données pour formuler des recommandations sur les meilleures stratégies à mettre en œuvre pour faire échec à la maladie.

Matériel de base

Lampes torches avec leurs accessoires (par exemple, une lampe avec ses piles), louches pour la collecte des larves, pipette, aspirateur, filets, plateaux à larves, bols empilables en plastique, enceintes pour l'élevage des moustiques, bloc-notes imperméable, cartons ou cages, microscope stéréoscopique avec zoom, flacon et pincettes.

Mode opératoire

Où prospecter

Il faut prospecter dans toutes les localités qui ont été choisies pour l'investigation entomologique sur la base des critères énumérés à la section 3.1. Dans chacune d'elles, on investiguera l'environnement domestique et péri-domestique.

Les enquêtes doivent porter sur des ménages choisis au hasard, ce qui nécessite la détermination initiale du nombre de concessions où se rendre dans chaque localité pour que les résultats soient statistiquement significatifs (c'est-à-dire avec un intervalle de confiance à 95 %). Cette détermination repose sur les données géographiques qui permettent d'obtenir une estimation précise du nombre total de ménages dans chaque communauté. Si ces données font défaut, on pourra évaluer le nombre total de ménages à partir des données démographiques – notamment la taille de la population et sa densité (c'est-à-dire le nombre de personnes par ménage). On obtiendra le nombre de ménages en divisant le nombre d'habitants de la communauté par le nombre de personnes vivant dans chaque habitation.

Une fois la taille de l'échantillon (nombre de maisons à visiter) déterminée pour chaque localité affectée, elle sera divisée par le nombre de maisons ayant notifié des cas de fièvre jaune (maison index). La valeur obtenue constituera le nombre de maisons à investiguer dans l'environnement de chaque maison index. Chaque maison index sera le point de départ d'une investigation de cas. Après l'avoir visitée, la sélection des maisons suivantes se fera suivant les procédures habituelles de choix au hasard. Le pas de l'échantillonnage sera calculé par le rapport du nombre de maisons de la communauté au nombre de maisons à prospecter.

Dans chaque maison, il faut prospecter à l'intérieur et à l'extérieur des locaux (dans la cour des concessions). Pour toute activité nécessitant un accès aux lieux d'habitation privés, il est très important de se faire accompagner par un guide appartenant à la communauté si l'on veut que celle-ci donne son accord à l'enquête entomologique.

Comment prospecter

Il faut tout d'abord que l'ensemble du personnel local qui participe à l'enquête et à la collecte des moustiques, de même que chaque chef de famille chez qui l'on recherche des larves et des adultes, donnent oralement leur consentement en toute connaissance de cause. Dans chaque concession où l'on va prospecter, il faut expliquer au chef de famille ou à son ou ses représentants légaux quelle est la raison d'être de cette investigation, comment on va procéder pour mener les différentes activités, de quelle façon les résultats seront utilisés et comment les résultats obtenus pourront être exploités pour aider la communauté à juguler la fièvre jaune.

Tous les réceptacles artificiels contenant de l'eau qui se trouvent à l'intérieur des habitations ou dans la cour seront inspectés à l'aide d'une lampe torche. Il faudra également inspecter tous les gîtes larvaires naturels présents dans l'environnement domestique et péri-domestique et qui contiennent de l'eau. Les figures 1 et 2 donnent des exemples du genre de gîtes larvaires qui peuvent être ceux de vecteurs de la fièvre jaune. À noter que ces gîtes larvaires sont très différents de ceux qu'utilisent les vecteurs d'autres maladies comme le paludisme ou de ceux qui sont habituellement signalés par la population ou les autorités parce qu'ils sont sources de nuisances.

Figure 1 : Sites de reproduction du *Aedes aegypti* dans l'environnement péridomestique

Récipients jetés

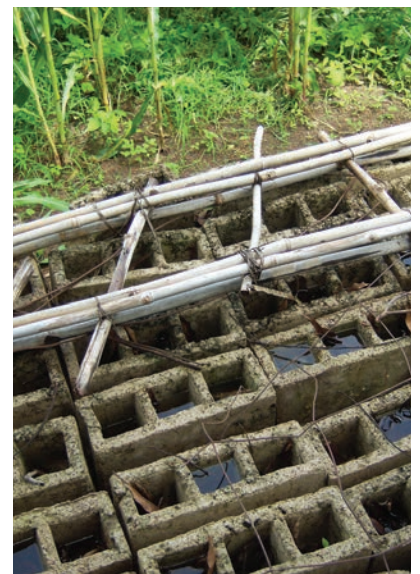


Figure 2 : Sites de reproduction du *Aedes aegypti* dans l'environnement domestique

Récipients utilisés pour le stockage des déchets



Lorsqu'on trouve un récipient qui contient au moins une larve ou une nymphe, on doit le considérer comme positif. Dans ce cas, on prélève un échantillon de larves ou de nymphes que l'on conserve vivantes dans une bouteille contenant de l'eau du gîte larvaire. On étiquette ensuite soigneusement la bouteille en indiquant la date de collecte, le numéro d'identification de l'habitation, le type de gîte larvaire, etc. Des informations au sujet du nombre d'unités d'habitation sont à obtenir auprès du représentant légal du ménage. On entend par unités d'habitation les pièces où dort au moins une personne.

Toutes les informations tirées de l'enquête doivent être enregistrées. L'annexe 1 donne un modèle de formulaire.

Pour que la prospection soit un succès, il faut veiller à ne pas causer de panique dans la communauté. L'interprétation qui peut être faite de la présence de gîtes larvaires positifs dans un ménage risque de nuire à la coexistence sociale, voire conduire à la stigmatisation du ménage en question. Pour éviter cela, il est capital d'expliquer aux autorités communautaires et à la population quels sont les facteurs bionomiques qui attirent les moustiques vers certains types de récipients.

Comment manipuler et conserver les échantillons

Après la collecte des larves et des nymphes, on peut utiliser deux méthodes pour les manipuler et les conserver.

1. Une fois que l'on a recueilli les larves et les nymphes sur le terrain, il faut les apporter à l'insectarium dans de petits récipients (figure 3). On les met ensuite dans des cages d'élevage ou dans des récipients à collections recouverts d'un filet. Ces cages ou enceintes d'élevage sont inspectées quotidiennement afin de voir s'il y a des imagos en train d'éclore. Les imagos éclos sont collectés par aspiration et tués par réfrigération. On procède ensuite à leur identification et on les regroupe par espèces, ainsi que par sexe et origine géographique. Toutes ces données doivent être enregistrées. Les annexes 2 et 3 donnent des modèles de formulaires.
2. Lorsque le transport présente des risques ou que l'on ne dispose pas d'installations convenables, les larves et les nymphes recueillies sur le terrain sont conservées dans l'alcool en vue de leur identification. On peut procéder à l'identification directement sur les larves et les nymphes après montage sur lames. Cette méthode permet de reconnaître les espèces avec une grande exactitude mais elle présente quelques inconvénients – elle prend du temps car la préparation des lames est assez longue, ce qui est gênant lorsqu'on enquête sur une épidémie, et par ailleurs les échantillons ne conviennent pas pour les études virologiques.

Figure 3 : Différentes étapes pour la prospection des stades immatures et insectarium

Étape 1. Prospection sur le terrain des stades immatures



Inspection des récipients

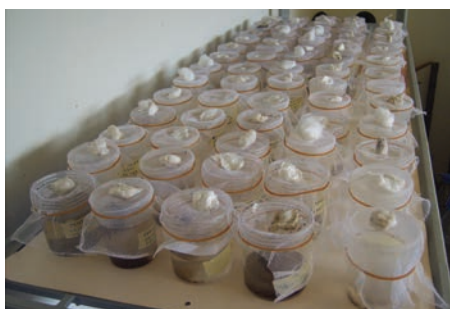


Remplir le formulaire



Transfert des échantillons de larves

Étape 2. Élevage des larves et nymphes dans l'insectarium



Échantillons recouverts d'un filet



Cages d'élevage contenant des échantillons de larves

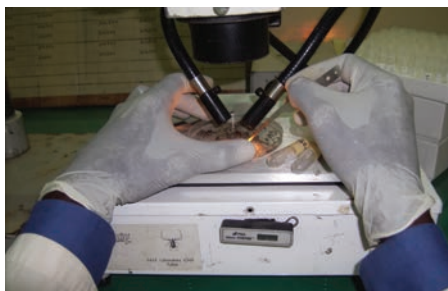


Gobelets en carton contenant des échantillons de larves

Étape 3. Aspiration et destruction par réfrigération des imagos



Étape 4. Identification morphologique des imagos



Analyse des résultats

Cette analyse doit porter sur au moins deux éléments fondamentaux de l'investigation : les indices de risque épidémique et les courbes d'abondance.

Indices de risque épidémique

On a élaboré plusieurs indices vectoriels pour évaluer le risque de flambées, mais dans le cas de la fièvre jaune, on utilise communément l'indice de Breteau (IB), l'indice récepteur (IR) et l'indice d'habitation (IH). L'indice de Breteau est le nombre de récepteurs contenant des larves ou des nymphes pour 100 habitations contrôlées. L'indice récepteur est le pourcentage de récepteurs positifs. L'indice d'habitation est le pourcentage de maisons où l'on a trouvé des larves ou des nymphes (le calcul de cet indice dépend de la configuration de l'habitation, qui est difficile à définir avec précision dans certains lieux d'Afrique).

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 1987), il y a risque d'épidémie lorsque ces indices dépassent le seuil de 5% pour l'indice de Breteau, de 3% pour l'indice récepteur et de 4% pour l'indice d'habitation.

Il faut procéder à cette évaluation du risque dans chaque localité concernée afin de localiser et de délimiter avec précision le secteur à risque.

Courbes d'abondance

Le deuxième temps de l'analyse consiste à déterminer la typologie des gîtes larvaires et à tracer leur courbe d'abondance dans chaque localité. Cette analyse a pour but d'évaluer l'abondance des gîtes larvaires qui contiennent de l'eau puis de déterminer le nombre de ceux qui sont positifs. Dans chaque cas, il faut commencer par classer les gîtes en fonction de leur localisation dans l'environnement domestique et péri-domestique, puis déterminer quels sont les types particuliers de récepteurs qui sont les plus infestés dans un secteur donné.

Les figures 4 et 5 indiquent quels types de résultats peuvent être obtenus par une analyse typologique. La figure 4 correspond à une localité où la plupart des récepteurs sont de nature domestique. Presque tous les récepteurs mis au rebut ou d'autres objets comme des vieux pneus, par exemple, ou les gîtes larvaires naturels ne contenaient pas d'eau. C'est dans les récepteurs domestiques qu'on a relevé les taux d'infestation les plus élevés. La figure 5 correspond à la situation contraire.

Figure 4 : Typologie des récepteurs pleins et positifs

(récepteurs domestiques)

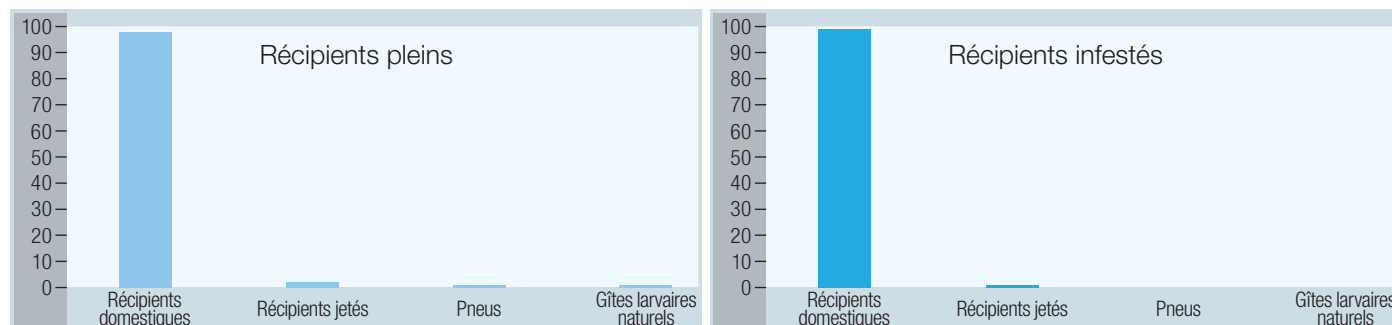
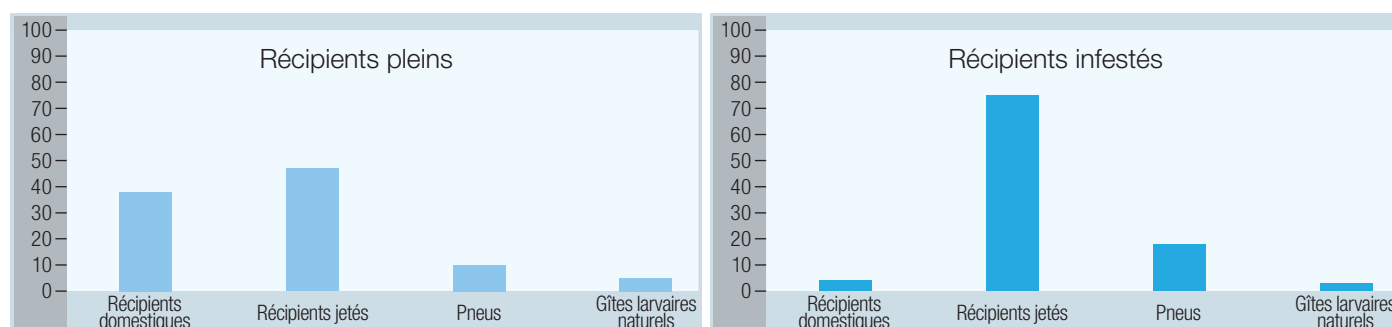


Figure 5 : Typologie des récepteurs pleins et positifs

(récepteurs jetés)



L'analyse des données révèle que, dans l'environnement domestique, les gîtes larvaires contenant de l'eau et/ou infestés ne sont pas de même nature. Les figures illustrent parfaitement ces observations. Sur la figure 6 qui correspond à la localité 2, on constate que, bien que l'on ait affaire à de grandes jarres d'argile contenant de l'eau, elles ne sont pas infestées. En revanche, les fûts métalliques, les pots de fleurs, les réservoirs et autres objets étaient infestés, pour la plupart. Dans la localité 1 (figure 7), les récipients qui contenaient de l'eau étaient plus divers, mais les récipients les plus couramment rencontrés étaient aussi des jarres d'argile. Cependant, les récipients infestés étaient moins diversifiés et ce sont les réservoirs qui semblent avoir été responsables de cette infestation.

Les analyses de ce genre peuvent permettre de cibler avec précision les sources de prolifération des moustiques.

Figure 6 : Typologie des récipients pleins et positifs

(localité 2)

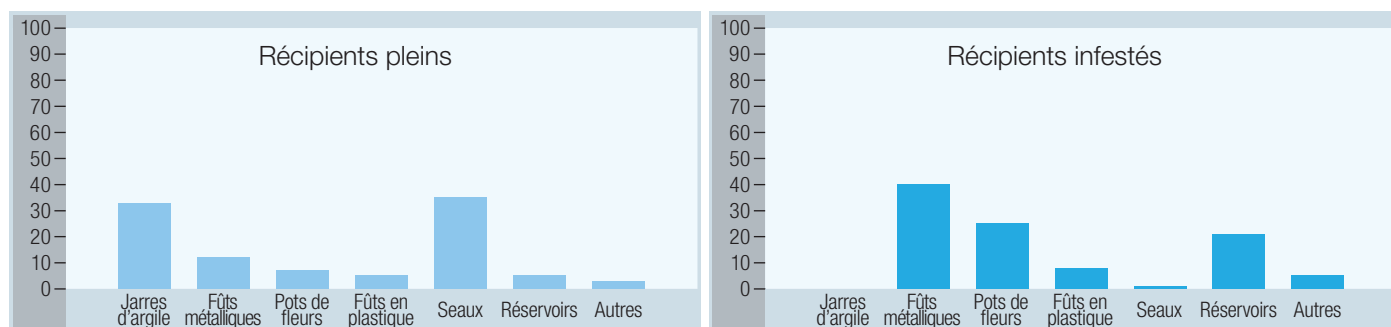
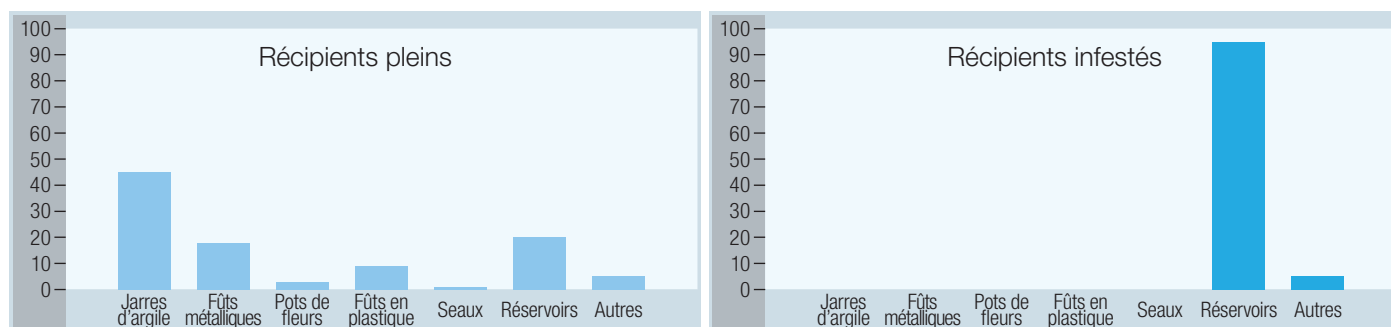


Figure 7 : Typologie des récipients pleins et positifs

(localité 1)



Observations et interprétation des résultats

Identification des gîtes larvaires pour établir de meilleures stratégies de lutte contre les stades aquatiques

Contrairement aux moustiques adultes, qui sont libres de leurs mouvements, les stades larvaires sont confinés dans un espace donné et de ce fait, plus faciles à éliminer. Des mesures spécifiques doivent être prises compte tenu des nombreux moyens de lutte existants, de la diversité des vecteurs et de la diversité des contextes épidémiologiques et socio-économiques. Une investigation entomologique bien conduite peut permettre d'identifier les gîtes larvaires et faciliter le choix de la méthode de lutte antivectorielle la plus appropriée.

On peut se servir de l'investigation entomologique pour indiquer aux opérateurs si les activités de lutte antivectorielle sont adaptées à la situation. Les résultats de l'investigation devront ensuite guider le choix des meilleurs outils ou méthodes pour éliminer les moustiques, s'il y a lieu. Si l'on a affaire à des gîtes larvaires forestiers, aucun type de lutte antivectorielle n'est praticable. En revanche, s'il s'agit de gîtes larvaires artificiels, plusieurs mesures peuvent être prises en fonction du contexte et de la typologie des gîtes, par exemple des traitements larvicides, une mobilisation sociale et des campagnes éducatives.

Comme larvicides, on peut utiliser *Bacillus thuringiensis* ou du téméphos. Ils se sont révélés efficaces dans certains contextes, mais leur acceptabilité dans l'eau de boisson peut être discutable aux yeux de la communauté.

Le téméphos est un insecticide organophosphoré soluble dans l'eau qui est largement utilisé depuis plus de 30 ans pour détruire les larves de moustiques ou d'autres invertébrés aquatiques et son usage est autorisé dans l'eau de boisson. Il est conçu pour subsister dans l'eau traitée en fonction de la sensibilité du vecteur et du contexte géographique, mais pendant 3 semaines au moins. Toutefois, son efficacité fait débat pour plusieurs raisons.

Le téméphos est utilisé comme larvicide pour combattre les vecteurs de la dengue. On peut en mettre dans les récipients mis au rebut ainsi que dans les réservoirs d'eau, y compris les réservoirs d'eau de boisson. La méthode consiste à verser du téméphos (la plupart du temps sous forme de granulés) dans chaque récipient d'eau pour obtenir une concentration finale de 1%. La quantité de téméphos à utiliser dans chaque récipient dépend donc du volume d'eau qu'il contient. Selon le lieu géographique, le produit peut rester actif pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois après le traitement. Il faut évaluer la sensibilité du vecteur au téméphos tous les 2 à 3 ans. Toutefois, dans certaines communautés mal informées, un rinçage trop fréquent des récipients pour éliminer les débris, les particules d'argile et le goût que le téméphos donne à l'eau de boisson, réduit souvent la durée de conservation du produit dans les récipients traités.

Par une mobilisation sociale et des campagnes éducatives, on peut inciter les communautés à éliminer les récipients infestés. Les mesures consistent notamment à nettoyer et à vider les gîtes larvaires domestiques des vecteurs, à conserver l'eau dans des récipients munis de bouchons à vis, à renouveler périodiquement cette eau et à éliminer les récipients mis au rebut.

Planification de la vaccination

Le deuxième avantage de l'investigation des stades aquatiques est de permettre une évaluation du risque de flambées de fièvre jaune et la délimitation des zones où ce risque existe : cela conduira à une bonne planification et à une gestion rationnelle de la vaccination. De fait, la connaissance des seuils des divers indices de risque épidémique permet de classer les zones d'étude en fonction de leur niveau de risque et par voie de conséquence, de déterminer celles qui sont prioritaire pour une vaccination de masse.

Trois cas sont possibles :

- Tous les indices ont une valeur supérieure au seuil de risque ; dans ces conditions, le risque d'épidémie est constitué ;
- L'un des indices dépasse le seuil de risque alors que les autres restent en dessous de cette valeur ; dans ces conditions, le risque est constitué dans la zone ou les zones où le seuil de risque est dépassé.
- Aucun indice ne dépasse le seuil de risque. Dans ce cas, la zone est jugée sûre ou non exposée au risque d'épidémie de fièvre jaune.

3.2.2 Stades aquatiques : œufs

Objet

L'objectif principal est d'identifier les espèces de moustiques présentes et d'évaluer leur densité.

Les enquêtes larvaires sont encore une méthode valable pour la surveillance des vecteurs. Toutefois, leur succès est conditionné par le repérage de tous les gîtes larvaires existants.

Matériel de base

Des ovipières ou pièges-pondoirs (ils peuvent être confectionnés localement avec du matériel tout à fait rudimentaire comme des boîtes de conserve et de la peinture noire ou tout autre récipient cylindrique de couleur noire), du papier-filtre, du coton et de fins morceaux de bois.

Mode opératoire

Où et comment prospecter

Des pièges-pondoirs, équipés d'un papier-filtre ou d'un morceau de bois, sont remplis d'eau à 60 % puis posés dans l'environnement domestique (dans la cour des concessions) ou dans la forêt. Ces pièges sont posés sur le sol ou en hauteur, par exemple suspendus à un arbre ou à un mur au tout début de l'investigation et laissés sur place pendant une durée suffisamment longue (au moins une semaine).

On les inspecte régulièrement tous les 5 jours (Lourenço-de-Oliveira et al., 2008) de manière à ne pas laisser aux œufs le temps d'éclore. Cette fréquence de visite permettra d'éviter une éclosion imaginaire au cas où des œufs viendraient à éclore. Chaque fois que l'on trouve un piège-pondoir positif, on en recueille les œufs qui sont sur le papier-filtre ainsi que l'eau. On remplit à nouveau le piège avec de l'eau puis on le munit d'une plaque de couverture ou d'un nouveau papier-filtre sur le bord.

Comment traiter les échantillons

Avant de manipuler les échantillons, on commence sur place par recueillir dans des sacs en plastique le papier-filtre, le coton ou le disque de bois contenant les œufs. Au laboratoire, on les dispose sur un plateau contenant de l'eau pour que les œufs puissent éclore.

Les adultes qui éclosent sont anesthésiés par réfrigération et identifiés sur une table réfrigérée. On les regroupe ensuite en fonction de leur origine géographique, de leur sexe et de la date de collecte afin de procéder à la recherche du virus amaril.

Analyse et interprétation des résultats

L'analyse initiale va permettre de faire l'inventaire des espèces de moustiques présentes sur certains sites, ce qui facilitera la détermination du type de cycle de transmission en cause. L'estimation de l'abondance des moustiques se fait indirectement d'après le nombre d'œufs par piège-pondeur ou l'indice piège pondeur (rapport du nombre de pièges-pondeurs positifs pour *Aedes* au nombre total de pièges posés dans un secteur donné). On peut déterminer un indice hebdomadaire ou un indice mensuel.

3.2.3 Trous d'arbres et autres gîtes larvaires naturels

Objet

Ce mode opératoire est particulièrement recommandé pour une investigation entomologique effectuée pendant la saison sèche, lorsque les vecteurs dont la dynamique est conditionnée par les précipitations (ce qui est le cas pour les vecteurs sylvestres de la fièvre jaune) sont généralement absents. Dans ce cas, le principal objectif sera de reconstituer la situation qui existait pendant la saison des pluies et par conséquent de déterminer si des vecteurs sauvages sont présents ou absents dans le lieu en cause.

Mode opératoire

Où et comment prospecter

Cette activité est menée dans la forêt ou dans l'écotone (zone de transition entre la forêt galerie humide et la savane) voisins. Pour prospecter de cette manière, il faut gratter les trous d'arbres avec une cuillère, un couteau ou un autre instrument (figure 8) pour recueillir les œufs d'*Aedes* dont on sait qu'ils résistent à la dessiccation. C'est d'ailleurs pour cette raison que tout le contenu des trous d'arbres ou d'autres gîtes larvaires potentiels (par exemple, des bambous, des coques de fruits ou des creux de rochers) présente un intérêt.

Figure 8 : Prospections dans les trous d'arbres



Comment traiter les échantillons

Comme indiqué à la section 3.2.2, les échantillons prélevés dans des trous d'arbres ou autres gîtes larvaires seront recueillis sur place dans des sacs en plastique puis plongés dans l'eau au laboratoire pour faire éclore les œufs. Plusieurs immersions sont parfois nécessaires pour stimuler l'éclosion. Autrement dit, si la première immersion ne donne pas de résultats concluants, il faut sécher les échantillons et les replonger dans l'eau au bout de quelques jours.

Les larves qui éclosent seront ensuite élevées jusqu'au stade de l'éclosion imaginale, après quoi les adultes seront congelés, identifiés puis regroupés par espèce et sexe en vue de la recherche du virus.

Analyse et interprétation des résultats

L'analyse repose sur le répertoire des vecteurs présents sur les lieux et par conséquent sur le cycle de transmission en cours pendant l'épidémie ou dans la zone d'étude. Ces données peuvent être utilisées pour estimer la prévalence des moustiques et indirectement, évaluer leur densité dans la zone d'étude.

3.3 Prospection à la recherche des stades adultes

3.3.1 Objet

Cette prospection a pour objectif d'identifier les moustiques présents dans la zone d'étude, notamment des vecteurs de la fièvre jaune, d'estimer leur densité et d'étudier leur comportement biologique et écologique (par exemple évaluer leur agressivité ou déterminer s'ils piquent et se reposent à l'intérieur ou à l'extérieur) ainsi que leur association avec le virus amaril dans leur milieu naturel.

3.3.2 Matériel et installations de base

Insectarium, récipient pour le stockage (par exemple, un récipient d'azote liquide), matériel pour l'élevage des moustiques (plateau, pipettes, pinces, cages, carton, coton, boîte de Petri, humidificateur) microscope stéréoscopique avec zoom.

3.3.3 Mode opératoire

Échantillonnage des adultes actifs sur des volontaires humains

Objectifs

Les objectifs de cette activité sont les suivants :

- Identifier les espèces de moustiques qui piquent des êtres humains ;
- Recenser les vecteurs de la fièvre jaune connus dans la région. Des informations sur les espèces qui composent la population vectorielle sont particulièrement utiles pour définir les modes de transmission : en effet, comme on l'a déjà noté, ceux-ci ont des conséquences sur le plan épidémiologique et leur connaissance permet d'avoir une idée des stratégies de lutte les plus appropriées à mettre en œuvre ;
- Évaluer le degré de participation de chaque espèce à la transmission de l'épidémie d'après certains paramètres mesurables tels que :
 - le taux d'agressivité, estimé d'après le nombre de piqûres subies en un lieu par une personne pendant un intervalle de temps donné
 - le taux d'inoculation, estimé d'après le nombre de piqûres infectieuses subies par une personne pendant un intervalle de temps donné
- Évaluer l'implication de chaque espèce dans la transmission de l'épidémie en étudiant son comportement écologique et biologique afin de délimiter leur zone d'activité et de mettre en œuvre de meilleures stratégies de lutte.

Où et comment prospecter

Dans l'environnement domestique, on capturera les moustiques à l'intérieur et à l'extérieur des habitations afin d'évaluer les tendances exophages et endophages des vecteurs potentiels.

Certains vecteurs de la fièvre jaune sont des moustiques sylvestres (ils vivent en forêt) mais ils peuvent aussi avoir une activité domestique. Toutefois, dans l'environnement domestique, il y a peu d'espèces qui piquent à l'intérieur des habitations. En Afrique de l'Ouest, c'est le cas, par exemple, d'*Ae. furcifer* qui ne pique pas à l'intérieur mais est très actif dans la cour des habitations. Cela vaut aussi pour *Ae. bromeliae* en Afrique de l'Est et également pour *Ae. aegypti* qui est aussi bien endophage qu'exophage. Dans ces conditions, si l'on ne s'intéresse qu'à un seul de ces sites de collecte, on risque d'introduire un biais dans les résultats, par exemple de sous-estimer l'abondance des vecteurs ou de les considérer comme tout à fait absents.

C'est en tenant compte du comportement des vecteurs que telle ou telle intervention sera possible. On ne peut, par exemple, envisager des pulvérisations intradomiciliaires à effet rémanent que si les vecteurs ont des tendances endophages.

Dans un environnement forestier, il est important d'aller prélever des échantillons en forêt car le virus amaril provient au départ de la forêt vierge. Dans l'environnement domestique, la maladie est souvent précédée par la circulation du virus en forêt.

On sait que la plupart des vecteurs de la fièvre jaune sont actifs au niveau de la canopée, aussi faudra-t-il en capturer à la fois au sol et en hauteur.

Comment procéder aux enquêtes

On considère souvent que les moustiques sont actifs pendant la nuit. C'est vrai pour les vecteurs de certaines maladies, ceux du paludisme par exemple, mais ce n'est pas le cas des vecteurs de la fièvre jaune. Nombre d'entre eux sont actifs au crépuscule, d'autres sont diurnes (*Ae. aegypti*, par exemple) ou encore actifs au petit matin.

L'idéal, pour l'investigation, serait de capturer les moustiques sur une durée de 24 heures afin de déterminer avec exactitude le pic d'activité de chaque espèce. Les captures suivantes pourraient alors s'effectuer en fonction du pic d'activité.

Comme la plupart de vecteurs de la fièvre jaune piquent dans la journée, il est recommandé de choisir au moins trois périodes de collecte d'une durée de 2 à 3 h au cours de la journée et pendant la pénombre (principalement au crépuscule). On pourrait par exemple opérer selon l'horaire suivant : 8h-11h, 12h-15h et 17h-20h. Si l'on ne fait pas d'enquête sur toute la journée, des captures au crépuscule et au petit matin peuvent convenir.

Comment capturer les moustiques

Ce sont les volontaires qui servent eux-mêmes d'appâts et il y a deux façons pour le faire :

- Les moustiques qui se posent sur les jambes nues du volontaire sont repérés à l'aide d'une lampe torche et capturés un à un au moyen d'un tube de verre. On ferme ensuite le tube avec un bouchon ou un tampon de coton.
- Les moustiques qui sont attirés par les jambes nues du volontaire sont capturés, même avant qu'ils ne se posent, au moyen d'un aspirateur à bouche ou d'un petit filet puis placés dans un carton (figure 9).

Figure 9 : Capture sur appât humain



Matériel de base

Tubes de verre, coton, sachets, lampes torches, aspirateur et petits filets

Comment manipuler et conserver les échantillons

Après chaque séance de capture, les moustiques sont immédiatement identifiés sur place, soit en les tuant par réfrigération, soit pendant qu'ils sont encore vivants dans les tubes. Si les conditions du terrain ne permettent pas l'identification des moustiques, on les tue puis on les place dans des tubes avant de les congeler dans l'azote liquide et de les apporter au laboratoire.

Au laboratoire, l'identification des adultes se fait par examen avec un microscope monté sur une table réfrigérée en utilisant des clés de détermination morphologiques (Edwards, 1941 ; Ferrara et al., 1984 ; Huang, 1986a, 1986b ; Jupp, 1997). Il faudra veiller à faire une identification séparée des moustiques selon leur origine géographique et écologique (ville, village, forêt, environnement domestique ou péri-domestique, capture à l'intérieur ou à l'extérieur, typologie des gîtes larvaires, capture en canopée ou au sol, etc.).

Les mâles seront séparés des femelles, et celles qui sont gorgées séparées de celles qui sont à jeun puis on les regroupera par lots de 10 spécimens de chaque espèce au maximum, par sexe et par origine géographique et écologique. Il faut aussi classer les échantillons en fonction de leur origine géographique (ménage par ménage), de leurs gîtes larvaires et de la date de capture.

Chaque échantillon devra être accompagné d'un certain nombre de renseignements qui seront consignés dans un formulaire (en voir un modèle à l'annexe 2) et devront porter au minimum sur les points suivants : date de collecte, lieu, habitat d'origine, sexe et mode de collecte. Les lots monospécifiques de moustiques devront être classés selon le sexe, l'origine, l'état trophique (séparation des femelles gorgées et non gorgées), la date de collecte et toutes ces informations devront être consignées. (Voir les modèles de formulaires aux annexes 2 et 3).

Les lots de moustiques seront ensuite conservés à -70°C ou -180°C en attendant d'être soumis à des analyses pour rechercher le virus (PCR en temps réel et/ou isolement du virus). La transmission verticale est confirmée si le virus est mis en évidence par une PCR en temps réel ou par isolement (voir la technique à la section 3.4). Un résultat positif signifie que le virus a pu se maintenir dans la zone et pourrait donner lieu à un nouveau cycle de transmission si les conditions sont favorables.

Considérations d'ordre éthique

Il n'est pas inutile de mentionner les problèmes d'éthique que pose cette méthode de collecte, puisqu'elle expose des membres du personnel aux piqûres de moustiques. C'est cependant la seule technique dont on dispose pour échantillonner certaines populations culicidiennes, notamment les vecteurs sylvestres de la fièvre jaune. Il n'en existe pas d'autre pour capturer ces vecteurs. Dans le cas de la fièvre jaune et de la dengue, plusieurs autres techniques de collecte ont été développées ou sont en cours d'évaluation sur le terrain (voir plus loin le paragraphe consacré à ce point), mais aucune ne vaut l'utilisation d'appâts humains. La plupart des pièges utilisés ont fourni des résultats intéressants concernant les vecteurs d'épidémies (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* ou *Ae. polynesiensis*) de fièvre jaune, de dengue et de chikungunya ; en revanche, il n'y a aucune information indiquant ce qu'ils donnent avec les moustiques des sous-genres *Stegomyia* et *Diceromyia*. Par conséquent, nous recommandons d'utiliser la méthode de capture sur appâts humains après avoir formé le personnel concerné, l'avoir vacciné contre la fièvre jaune et lui avoir prescrit une prophylaxie antipaludique.

Compte tenu du niveau d'éducation des interlocuteurs et du temps limité imparti à l'investigation, il faut demander à tous les participants présents sur le terrain qu'ils donnent oralement leur accord. Le protocole de l'étude doit être expliqué avec soin aux représentants légaux de chaque communauté où l'on se rend afin d'obtenir également leur consentement. Il faudrait aussi que tous les membres des équipes et les membres du personnel local participant à l'enquête et à la collecte des moustiques (notamment les volontaires servant d'appâts humains) ainsi que les chefs de famille de chaque ménage où des moustiques immatures ou adultes sont récoltés donnent oralement leur consentement en toute connaissance de cause.

Autres méthodes pour la collecte de moustiques adultes actifs

Il existe de nombreuses autres méthodes pour la collecte des vecteurs de la fièvre jaune comme le piège BG-Sentinel, le piège à femelles gravides, le piège lumineux du CDC, le piège adhésif et d'autres pièges utilisant différents leurres olfactifs chimiques ou naturels (figure 10). Ils ont tous l'inconvénient de manquer d'efficacité pour la capture des vecteurs sylvestres de la fièvre jaune ; leurs résultats sont très inférieurs à ceux de la capture sur appâts humains.

Figure 10 : Méthodes de piégeage des moustiques



Ces pièges peuvent être placés aux mêmes endroits que les appâts humains (à l'intérieur ou à l'extérieur dans l'environnement domestique, au niveau du sol ou de la canopée en forêt). Ils doivent rester en place toute la nuit ou même pendant 24 heures.

Les pièges à femelles gravides ont l'avantage de capturer des femelles à la recherche d'un gîte larvaire (c'est-à-dire des femelles qui ont pris un repas de sang), ce qui accroît les chances d'isoler le virus.

Le piège adhésif fonctionne de la même manière qu'un piège-pondoir. Toutefois, ce piège contient de la colle qui immobilise et tue les moustiques femelles qui y pénètrent pour pondre. Le principal problème, c'est que les moustiques capturés de cette manière sont difficile à identifier à cause de la colle. En plus, la colle peut gêner la recherche du virus et c'est un point qu'il faut prendre en considération. Lorsqu'on va venir relever les pièges, un certain nombre de moustiques seront déjà morts depuis plusieurs heures et ils ne pourront donc pas être utilisés pour l'isolement du virus. De plus, en fonction de la température et de l'humidité, ils risquent de ne pas être utilisables non plus pour faire une PCR en temps réel.

Collecte des moustiques adultes qui se reposent dans l'environnement domestique

Objet

La collecte des adultes dans l'environnement domestique a deux objectifs :

- Identifier les espèces présentes dans la zone d'étude
- Étudier le comportement des moustiques au repos et, par voie de conséquence, localiser leurs niches écologiques artificielles ou naturelles.

Endroits à prospecter dans des habitations humaines choisies au hasard

Rechercher la présence de moustiques dans les endroits sombres et humides qui peuvent constituer leurs lieux de repos dans les maisons et les cours. Il faut également fouiller la végétation forestière ainsi que l'environnement domestique et péri-domestique.

Quand prospecter

On peut prospecter pendant la journée, mais il est préférable de le faire le matin.

Comment prélever des échantillons parmi les moustiques au repos

Cet échantillonnage peut se faire de deux manières :

- On peut effectuer des pulvérisations intradomiciliaires avec un pyréthrinoloïde à effet rémanent en opérant de la même manière que pour la capture par pulvérisations des vecteurs du paludisme (figure 11). On recouvre tout le sol de la pièce avec des draps blancs. Deux personnes peuvent ensuite pulvériser simultanément l'insecticide- l'une à l'intérieur sur les murs et le plafond, l'autre à l'extérieur au niveau des sorties par lesquelles les moustiques pourraient éventuellement s'échapper (portes et fenêtres). Au bout de 10 minutes, on enlève les draps avec soin et on récolte les moustiques morts dans des récipients portant le numéro de la maison et de la pièce. Cette technique est efficace mais elle a l'inconvénient d'utiliser un produit chimique qui peut être toxique pour le virus.
- On peut aussi procéder par aspiration des moustiques qui se reposent dans les différentes pièces et sur la végétation environnante. Cette technique a l'avantage de permettre l'utilisation des moustiques pour tenter de mettre le virus en évidence, mais les résultats dépendent pour une grande part des efforts consentis (figure 12).

Figure 11 : Capture des moustiques par pulvérisations intradomiciliaires



Figure 12 : Aspiration des moustiques adultes au repos



Matériel de base

Draps blancs, insecticides, masques, flacons, pinces, microscopes stéréoscopiques avec zoom, aspirateur à dos avec ses accessoires.

Comment manipuler et conserver les échantillons

Une fois récoltés, les moustiques seront tués par réfrigération puis identifiés. On les répartira en lots monospécifiques afin de tenter de mettre le virus en évidence.

Toutes les informations fournies par ces enquêtes doivent être consignées. Les annexes 1 à 3 donnent des modèles de formulaires à cet effet.

Analyse et interprétation des résultats

Cette méthode permet une estimation de la densité vectorielle (nombre de moustiques récoltés par pièce). La présence d'un nombre important de vecteurs dans les différentes pièces signifie que les moustiques piquent ou que la transmission a lieu toute la journée. En pareil cas, des pulvérisations d'insecticide à effet rémanent permettraient un contrôle vectoriel efficace.

3.4 Recherche du virus amaril chez les moustiques vecteurs par la PCR en temps réel

La PCR en temps réel est une version plus élaborée de la PCR classique. Elle consiste à associer un signal fluorescent à l'accumulation des produits d'amplification obtenus par la réaction. L'accumulation du signal est mesurée puis représentée graphiquement en fonction du temps.

3.4.1 Broyage des échantillons de moustiques

Des lots de moustiques composés d'au moins 10 spécimens, sont triturés au pilon dans le milieu de culture essentiel minimum de Eagle ou bien le milieu de Leibovitz complété par du sérum fœtal de veau à 10 %, des acides aminés non essentiels et des antibiotiques. Aux fins de conservation et également pour des raisons de sécurité biologique, toutes ces manipulations doivent se faire dans une enceinte de confinement de niveau 2 et dans la glace car les virus à ARN sont sensibles aux gradients de température. L'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 4°C et le surnageant récupéré et conservé à -70°C.

3.4.2 Extraction de l'ARN

L'ARN est extrait du surnageant à l'aide du dispositif d'extraction de l'ARN viral QIAmp® (Qiagen GmbH, Heiden, Allemagne) en suivant les recommandations du fabricant. L'extrait est ensuite repris par 60 µl de tampon AVE puis conservé à -80°C en attendant l'exécution de la PCR en temps réel.

3.4.3 PCR en temps réel pour la recherche du virus amaril

La PCR en temps réel est effectuée sur tous les échantillons de vecteurs. La fluorescence est analysée à la fin de l'amplification.

3.5 Étude de la compétence vectorielle

La détermination de la compétence vectorielle a principalement pour objectif de classer chaque espèce en fonction de sa compétence vectorielle (vecteur probable, vecteur avéré, vecteur possible). Cette évaluation est recommandée car des populations d'une même espèce de moustique peuvent présenter une compétence variable en tant que vectrices du virus et la sensibilité au virus est déterminée par sa génétique. Celle-ci détermine également si les moustiques de diverses régions géographiques mais appartenant à la même espèce ont des degrés différents de compétence vectorielle.

Les techniques les plus courantes utilisées pour l'étude de la compétence vectorielle sont exposées dans les paragraphes suivants.

3.5.1 Choix des souches de moustiques

- Les moustiques à utiliser doivent être capturés dans les localités où le virus amaril est en circulation.
- Les tests doivent être pratiqués en priorité sur les espèces dont l'association au virus amaril est constatée au cours de l'épidémie afin de confirmer leur rôle dans la transmission de l'épidémie.
- Seuls les moustiques issus de femelles non infectées sont utilisés pour les tests d'infection.
- On travaille sur des moustiques âgés de 2 à 5 jours issus de la génération de laboratoire la moins avancée (F1 ou F2).
- Il faut caractériser les moustiques en fonction de leur hôte, de leur origine géographique, de leur biotope, du climat et des conditions d'élevage -nourriture, environnement (température et humidité relative), photo- périodicité et état physiologique.
- Si possible, il faut aussi avoir une souche de laboratoire utilisable comme témoin dont la compétence vectorielle soit bien déterminée (par exemple *Ae. aegypti*).

3.5.2 Choix des souches virales et préparation de la suspension virale stock

- Les souches virales isolées et identifiées au cours de l'épidémie ou dans la zone d'étude conviennent pour la détermination de la compétence vectorielle.
- Si aucune souche n'a été isolée pendant l'épidémie, il est recommandé d'utiliser une souche isolée dans le même contexte géographique et/ou qui soit phylogénétiquement similaire aux souches en circulation pendant l'épidémie.
- Les souches à utiliser sont caractérisées en fonction de leur origine géographique, de l'hôte dont elles proviennent (vertébré ou arthropode) et du nombre de passages. Selon la sensibilité et les caractéristiques du virus, on peut préparer la suspension virale stock de plusieurs manières :
 - inoculation intracérébrale à des souriceaux à la mamelle et recueil du surnageant après trituration des cervelles dans un milieu adéquat plusieurs jours après l'inoculation ;
 - inoculation intrathoracique à des moustiques du genre *Toxorhynchites* et recueil du surnageant après trituration des spécimens dans un milieu adéquat 14 jours après l'inoculation ;
 - inoculation à des cultures cellulaires et recueil du surnageant après 7 à 14 jours d'incubation.

3.5.3 Marche à suivre expérimentale

- On n'utilise que des érythrocytes pour éviter la présence d'anticorps anti-virus amaril dans les sérums prélevés sur des vertébrés.
- Le sang est prélevé de préférence 24 à 48 h après l'infection dans un tube contenant une solution d'héparine à 2%.
- Le sang est ensuite centrifugé à 4°C et à 1200 tours/min pendant 5 minutes.
- Après centrifugation, le surnageant (sérum) est éliminé et les érythrocytes sont mélangés avec du PBS 1x et recentrifugés. Cette étape est répétée trois fois.
- Le sang virémique contiendra les érythrocytes lavés, la suspension virale (de titre élevé) et de l'ATP à la concentration finale de 5×10^{-3} M.
- Le volume de chaque constituant de ce sang virémique peut varier en fonction du titre de la suspension virale stock. Les proportions les plus couramment utilisées sont de 2/3 d'érythrocytes lavés et de 1/3 de suspension virale ou de 50 % d'érythrocytes lavés et de 50 % de suspension virale.
- En fonction des espèces et de leurs habitudes trophiques, on pourra ajouter du saccharose à 10 % ainsi qu'une pincée de bicarbonate de sodium ou d'autres substances chimiques au repas de sang virémique, respectivement comme stimulant alimentaire ou comme attractif.
- Le repas de sang virémique est administré dans une enceinte d'alimentation en verre comportant une membrane en peau de souris ou de poulet ou encore constituée de parafilm.
- Le repas de sang virémique est présenté aux moustiques pendant 30 minutes pour leur laisser le temps de s'alimenter.
- Une fois que les moustiques se sont alimentés, on prélève un échantillon du repas de sang et on le conserve à -80°C pour en déterminer le titre.
- Les moustiques sont anesthésiés par réfrigération et les spécimens gorgés sont triés et incubés à 28°C avec un taux d'humidité relative de 70-80 % et reçoivent du saccharose à 10 % pendant 14 jours.
- À l'issue de cette période d'incubation, on laisse les moustiques piquer des vertébrés non infectés (des souris, par exemple) ou saliver dans un tube capillaire contenant soit du sérum de veau fœtal, soit un milieu, soit de l'huile à immersion (Aitken et al., 1977).
- Lorsqu'on utilise des souris pour évaluer la transmission du virus, on les met en observation plusieurs jours après l'exposition aux piqûres de moustiques. La présence de signes de paralysie ou de surdité, la détection du virus amaril ou d'anticorps anti-virus amaril indique qu'il y a eu transmission.
- Lorsqu'on utilise des tubes capillaires, les moustiques sont anesthésiés par le froid après incubation. On leur enlève ensuite les ailes et les pattes et on insère leur trompe dans un tube capillaire pendant 20 à 30 minutes.
- Après chaque opération, on rassemble les ailes et les pattes dans un même flacon et on analyse séparément les corps et la salive recueillie dans les tubes capillaires pour rechercher la présence du virus amaril soit par PCR, soit par isolement.

3.5.4 Analyse des données

- Les moustiques sont analysés individuellement et l'on considère qu'un échantillon est positif si la PCR en temps réel détecte la présence du virus.
- La détection du virus dans le corps du moustique sans infection des pattes, qui contiennent de l'hémolymphe, indique une infection non disséminée limitée à l'intestin moyen.
- La présence du virus, tant dans le corps du moustique que dans les pattes et les ailes, indique une infection disséminée dans l'hémocèle.
- La présence du virus dans la salive ou chez les vertébrés exposés (souris), indique une transmission possible du virus amaril.
- Le taux d'infection est égal au nombre de corps de moustiques infectés divisé par le nombre total de moustiques analysés.
- Le taux de dissémination est égal au nombre de moustiques dont les ailes et les pattes sont infectées divisé par le nombre de moustiques infectés.
- Le taux de transmission est égal au nombre de moustiques dont la salive est infectée divisé par le nombre de moustiques dont les ailes et les pattes sont infectées.

Observations

- La dissémination peut être évaluée directement par un test d'immunofluorescence effectué sur un broyat de têtes de moustiques après la période d'incubation extrinsèque.
- La transmission peut être évaluée indirectement d'après le taux de dissémination étant donné qu'un moustique capable de disséminer l'infection est généralement capable de la transmettre.
- Cette détermination expérimentale de la compétence vectorielle peut servir à évaluer la transmission verticale du virus et par conséquent, à déterminer dans quelle mesure le virus peut se maintenir dans la zone concernée.

3.6 Détermination de la sensibilité des vecteurs aux insecticides

- S'il est question de lutte antivectorielle, les activités doivent également comporter des tests de sensibilité aux insecticides sur les populations locales. On va donc utiliser plusieurs classes d'insecticides d'usage courant, approuvés au niveau international et respectueux de l'environnement afin de déterminer quels sont ceux qui tuent la plus forte proportion de vecteurs de la fièvre jaune capturés sur les différents sites d'étude. Les populations de moustiques sont élevées dans les mêmes conditions que pour l'étude de compétence vectorielle. Les adultes issus des nymphes et des larves récoltées sur le terrain ou la progéniture des femelles capturées sur le terrain peuvent être utilisés. Les moustiques adultes sont nourris avec une solution de saccharose à 10 %.
- Les tests biologiques sont effectués à l'aide des nécessaires d'épreuve de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) pour les moustiques adultes (OMS, 1998).
- Les papiers imprégnés sont fournis par le Service de lutte antivectorielle de l'École des Sciences biologiques (Universiti Sains Malaysia) qui est un centre collaborateur de l'OMS.
- Les tests sont effectués sur des femelles âgées de 2 à 5 jours.
- Des lots de 20 à 25 femelles sont exposés aux papiers imprégnés pendant 30 minutes pour le DDT à 4 % et pendant 1 heure pour les autres insecticides.
- Le nombre de moustiques abattus (« knockdown ») est enregistré toutes les 10 minutes pendant l'exposition. Le temps nécessaire pour abattre 50 % des moustiques (KDT50) ou 95 % des moustiques (KDT95) est calculé au moyen d'un logiciel gaussien-logarithmique (Statplus version 2009) selon la méthode de Finney (1971).
- Le taux de mortalité est enregistré au bout de 24 heures.
- Des tests au moyen de papiers non imprégnés sont systématiquement effectués sur des lots témoins. Si la mortalité dans ces lots se situe entre 5 et 20 %, on corrige le taux de mortalité des échantillons testés en utilisant la formule d'Abbott (Abbott, 1925).
- On applique les critères proposés par l'OMS pour déterminer la résistance ou la sensibilité (OMS, 1998).

4 Budget prévisionnel de l'investigation

Les Tableaux 3.1–3.4 sont destinés à faciliter d'établissement du budget de l'investigation entomologique.

Tableau 3.1 Budget personnel

| Personnel | Nb | Nb de jours | Total | Fonction | Rémunération (US\$) | |
|--------------------------|----|-------------|-------|---------------|---------------------|-------|
| | | | | | Par jour | Total |
| Spécialiste scientifique | | | | Entomologiste | | |
| Technicien qualifié | | | | | | |
| Technicien local | | | | | | |
| Guide | | | | | | |
| Agents de terrain | | | | | | |
| Total partiel | | | | | | |

Nb = nombre.

Tableau 3.2 Budget fournitures

| Désignation | Prix unitaire (US\$) | Nombre d'unités | Total |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------|-------|
| Lampe torche & accessoires | | | |
| Louche à larves | | | |
| Louche de 0,5 l | | | |
| Pipettes | | | |
| Plateaux à larves | | | |
| Cartons ou cages | | | |
| Flacons | | | |
| Pinces | | | |
| Aspirateurs mécaniques | | | |
| Aspirateurs à bouche | | | |
| Bols empilables | | | |
| Enceintes d'élevage pour moustiques | | | |
| Coton | | | |
| Boîtes de Petri | | | |
| Humidificateur | | | |
| Tubes de verre | | | |
| Masques | | | |
| Cryotubes | | | |
| Cartons | | | |
| Cages | | | |
| Carboglace | | | |
| Azote liquide | | | |
| Échelle | | | |
| Draps blancs | | | |
| Bombes insecticide | | | |
| Cartes | | | |
| Total partiel | | | |

| Désignation | Prix unitaire (US\$) | Nombre d'unités | Total |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------|-------|
| Petit matériel | | | |
| Aspirateur à dos | | | |
| Piège lumineux CDC | | | |
| Piège adhésif | | | |
| Pièges à femelles gravides | | | |
| Piège BG-Sentinel | | | |
| Microscope stéréoscopique avec zoom | | | |
| Table réfrigérée | | | |
| Récipient d'azote liquide | | | |
| Papier filtre | | | |
| Total partiel | | | |

Tableau 3.3 Budget transport

| Désignation | Prix unitaire (US\$) | Nombre d'unités | Total |
|----------------------|----------------------|-----------------|-------|
| Véhicule | | | |
| Carburant | | | |
| Total partiel | | | |

Tableau 3.4 Budget communication

| Désignation | Prix unitaire (US\$) | Nombre d'unités | Total |
|----------------------|----------------------|-----------------|-------|
| Modem portable | | | |
| Téléphone | | | |
| Total partiel | | | |

Total pour le projet : US\$ _____

Bibliographie

- Abbott WS (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18: 265–267.
- Aitken THG (1977). An in vitro feeding technique for artificially demonstrating virus transmission by mosquitoes. *Mosquito News*, 37(1):130–133.
- Bauer JH (1928). The transmission of yellow fever by mosquitoes other than *Aedes aegypti*. *American Journal of Tropical Medicine*, 8(4):261–283.
- Camargo S (1967). History of *Aedes aegypti* eradication in the Americas. *Bulletin of the World Health Organization*, 36:602–603.
- Cordellier R (1991). L'épidémiologie de la fièvre jaune en Afrique de l'Ouest. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 69(1):73–84.
- Cornet M, Robin Y, Heme G, Adam C, Renaudet J, Valade M, Eyraud M (1979). Une poussée épizootique de fièvre jaune selvatique au Sénégal oriental. Isolement du virus de lots de moustiques adultes mâles et femelles. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 9:63–66.
- Edwards FW (1941). *Mosquitoes of the Ethiopian region: Ill culicine adults and pupae*. London, British Museum (Natural History).
- Ellis B, Barrett A (2008). The enigma of yellow fever in east Africa. *Reviews in Medical Virology*, 18:331–346.
- Ferrara L, Germain M, Hervy JP (1984). *Aedes* (*Diceromyia*) *furcifer* (Edwards, 1913) et *Aedes* (*Diceromyia*) *taylori* (Edwards, 1936): le point sur la différenciation des adultes. *Cahier ORSTOM Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 22:95–98.
- Finney DJ (1971). *Probit analysis*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Fontenille D, Diallo M, Mondo M, Ndiaye M, Thonnon J (1997). First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti*, its epidemic vector. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91:533–535.
- Germain M, Cornet M, Mouchet J, Herve JP, Robert V, Camicas JL, Cordellier R, Hervy JP, Digoutte JP, Monath TP, Salaun JJ, Deubel V, Robin Y, Coz J, Taufflieb R, Saluzzo JF, Gonzalez JP (1981). La fièvre jaune selvatique en Afrique : Données récentes et conception actuelles. *Médecine Tropicale*, 41(1):33–43.
- Gould LH, Osman MS, Farnon EC, Griffith KS, Godsey MS, Karch S, Mulenda B, El Kholy A, Grandesso F, de Radiguès X, Brair ME, Briand S, El Tayeb el SM, Hayes EB, Zeller H, Perea W (2008). An outbreak of YF with concurrent Chikungunya virus transmission in South Kordofan, Sudan, 2005. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(12):1247–1254.
- Haddow AJ (1968). The natural history of yellow fever in Africa. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 70:191–227.
- Herve JP, Germain M, Geoffroy B (1977). Bioécologie comparée d'*Aedes* (*Stegomyia*) *opok* Corbet et Van Someren et *A. (S.) africanus* (Theobald) dans une galerie forestière du sud de l'Empire Centrafricain II. Cycles saisonniers d'abondance. *Cahier ORSTOM Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 15: 271–281.
- Huang YM (1986a). *Aedes* (*Stegomyia*) *bromeliae* (Diptera: Culicidae), the yellow fever virus vector in East Africa. *Journal of Medical Entomology*, 23:196–200.
- Huang YM (1986b). Notes on the *Aedes* (*Diceromyia*) *furcifer* group, with a description of a new species (Diptera: Culicidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 88(4):634–649.
- Huang YM (1990). The subgenus *Stegomyia* of *Aedes* in the Afrotropical region, I. The Africanus group of species (Diptera: Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 26:1–90.
- Jupp PG (1997). *Mosquitoes of southern Africa: Culicinae and Toxorhynchitinae*. Hartebeespoort, South Africa, Ekogilde cc Publishers.
- Jupp PG (1998). *Aedes* (*Diceromyia*) *furcifer* (Edwards) and *Aedes* (*Diceromyia*) *cordellieri* Huang in southern Africa: distribution and morphological differentiation. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14(3):273–276.
- Kerr JA, Decamargo S, Abedi ZH (1964). Eradication of *Aedes aegypti* in Latin America. *Mosquito News*, 24(3):276–282.

- Kirk R (1941). An epidemic of yellow fever in the Nuba Mountains, Anglo-Egyptian Sudan. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 35:67–108.
- Lee VH, Moore DL (1972). Vecteurs de l'épidémie de fièvre jaune de 1969 sur le Plateau de Jos Plateau (Nigeria). *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 46(5):669–673.
- Lewis DJ, Hughes TP, Mahaffy AF (1942). Experimental transmission of yellow fever by three common species of mosquitoes from the Anglo-Egyptian Sudan. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 36:34–38.
- Lourenço-de-Oliveira R et al. (2008). Comparison of different uses of adult traps and ovitraps for assessing dengue vector infestation in endemic areas. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(3):387–392.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé) (1987). *Lutte contre la fièvre jaune en Afrique*. Genève, OMS.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé) (1998). *Tests procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bioefficacy and persistence of insecticides on treated surfaces*. Rapport d'une Consultation informelle de l'OMS (WHO/MAL/98), Genève, OMS.
- Onyango CO, Grobbelaar AA, Gibson GV, Sang RC, Sow A, Swanepoel R, Burt FJ. (2004a). Yellow Fever outbreak, southern Sudan, 2003. *Emerging Infectious Diseases*, 10(9):1668–1670.
- Onyango CO, Ofula VO, Sang RC, Konongoi SL, Sow A, De Cock KM, Tukei PM, Okoth FA, Swanepoel R, Burt FJ, Waters NC, Coldren RL. (2004b). Yellow fever outbreak, Imatong, southern Sudan. *Emerging Infectious Diseases*, 10:1063–1068.
- Phillip CB (1930). Studies on the transmission of experimental yellow fever by mosquitoes other than *Aedes*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10:1–16.
- Powell JR, Tabachnick WJ, Arnold J (1980). Genetics and the origin of a vector population: *Aedes aegypti*, a case study. *Science*, 208:1385–1387.
- Reiter P, Cordellier R, Ouma JO, Cropp CB, Savage HM, Sanders EJ, Marfin AA, Tukei PM, Agata NN, Gitau LG, Rapuoda BA, Gubler DJ (1998). First recorded outbreak of YF in Kenya, 1992–1993. II. Entomologic investigations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59:650–656.
- Smithburn KC, Haddow AJ, Lumsden WHR (1949). An outbreak of sylvan yellow fever in Uganda with *Aedes (Stegomyia) africanus* Theobald as principal vector and insect host of the virus. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 43:74–89.
- Soper FL (1965). The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the United States. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14(6):887–891.
- Soper FL et al. (1933). Yellow fever without *Aedes aegypti*: study of rural epidemic in Valle do Chanaan, Espirito Santo, Brasil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 18:555–587.
- Stokes, Bauer JH, Hudson NP (1928). Experimental transmission of yellow fever to laboratory animals. *American Journal of Tropical Medicine*, 8:103–164.
- Tabachnick WJ, Powell JR (1979). A world-wide survey of genetic variation in the yellow fever mosquito, *Ae. aegypti*. *Genetics Research*, 34:215–219.
- Thonnon J et al. (1998). Re-emergence of yellow fever in Senegal in 1995. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59:108–114.
- Reed, W (1901). Propagation of yellow fever: observation based on recent researches. *Medical Record*, 60:201–209.

Annexe 1 Formulaire pour le rapport du prototypage des stades aquatiques

Date :

District :

Commune :

Arrondissement :

Village :

Position géographique :

| Nb de maisons | Nb d'unités d'habitation | Effectif du personnel | Type de gîte larvaire | | | | | | | | | | Coordonnée GPS | |
|------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------|-----------|----------------|-----------|-----------------|-----------|-------|-------------------|-------|--------|-------------------|---|
| | | | Réservoir en plastique | | Fût métallique | | Jarre en argile | | Pneus | Pots de fleurs | Puits | Autres | | |
| | | | Intérieur | Extérieur | Intérieur | Extérieur | Intérieur | Extérieur | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - |

GPS : système de géolocalisation par satellite ; nb : nombre

Annexe 2 Formulaire récapitulatif de l'investigation sur la population de moustiques

Date(s) : _____

Informations générales

District :

Commune :

Arrondissement :

Village :

Nom de la personne qui remplit le formulaire :

Récapitulatif – Investigation sur la population de moustiques

Personne contactée sur le site (nom/titre) :

Nom et titre du technicien local :

Nom et titre du guide de l'équipe :

Nombre de ménages où des prélèvements étaient envisagés :

Nombre de ménages où l'équipe s'est rendue :

Nombre d'unités d'habitation :

Nombre total de personnes dans le ménage :

Nombre total de récipients inspectés :

Nombre total de récipients positifs :

Nombre d'échantillons (flacon contenant des larves/nymphes):

Nombre de tubes d'adultes conservés :

Annexe 3 Formulaire pour l'enregistrement des moustiques groupés par lots

[illegible]

^a Forêt, environnement domestique ou péri-domestique. Si c'est un autre lieu, préciser lequel.

