

REPUBLIQUE DU BENIN

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE ZOOLOGIE

RAPPORT DE FIN DE STAGE DE LICENCE PROFESSIONNELLE

LICENCE EVOLUTION BIODIVERSITE DES ARTHROPODES ET
ASSAINISSEMENT

Thème

**Inventaire des Arthropodes nécrophages à
Cotonou**

Présenté par:

ABALLO Caroline

Sous la supervision de :

Dr. Germain Gil PADONOU

Maître Assistant des Universités (CAMES)

Département de Zoologie / FAST

COMPOSITION DU JURY

Président : Prof. Martin AKOGBETO

Membres : Dr. Ghélus GBEDJISSI

Dr. Germain Gil PADONOU

1ère Promotion

Année académique : 2015-2016

C.R.E-COTONOU

Remerciements

Les activités qui ont conduit à la rédaction du présent rapport ont bénéficié du soutien constant de plusieurs personnes. C'est pour moi une entreprise heureuse et un plaisir de leur témoigner mes gratitude.

Je voudrais particulièrement remercier :

- l'Eternel des armées, lui qui a assuré ma protection et ma sécurité durant toute la période de la formation et en particulier au cours des stages, Dieu, merci pour ta fidélité,
- le Coordonnateur de la formation, le Professeur Martin AKOGBETO, Professeur titulaire des Universités, Enseignant- Chercheur à la FAST et Directeur du CREC pour l'idée qu'il a eue de créer cette formation,
- le Docteur Germain Gil PADONOU, Maître-Assistant des Universités, Enseignant-Chercheur à la FAST, qui n'a ménagé aucun effort pour avoir accepté d'encadrer ce travail, Par ses conseils, sa patience et son amour du travail bien fait, il a rendu possible les activités et la rédaction de ce rapport, daignez trouver ici, cher Professeur, le témoignage de ma gratitude,
- toute l'équipe pédagogique, tous les chercheurs et spécialistes de notre formation, qui ont pris le temps pour nous offrir une formation de qualité,
- toute ma famille pour leur encouragement et leur soutien inconditionnel et indéfectible tout au long de cette formation, en l'occurrence ma mère Cécile TODEGNAHOU et ses sœurs, mon grand frère Jonas, mes frères Simplicie, Tikas et mes grandes sœurs Colette, Juliette, Béatrice et Rachelle,
- tout le personnel du CREC pour sa franche collaboration, en particulier le Docteur Bio-Bangana Sahabi pour la réalisation de la carte de la ville de Cotonou,
- le Docteur Bienvenu GLINMA pour ses conseils et son encouragement, mes camarades promotionnaires de la LEBA, en particulier Constant GOMAVO pour sa solidarité envers moi et Olivier SOTONHOUNDE pour son soutien moral et financier puis tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à ce travail.

Je voudrais avoir une pieuse pensée pour mon feu père Emile ABALLO, il a fortement contribué à ce que je suis aujourd'hui, son soutien a été d'une valeur inestimable.

Résumé

Dans le contexte actuel des changements climatiques, l'un des plus importants défis auxquels les collectivités locales, les entreprises et la société civile font face est celui du contrôle des Arthropodes. C'est ce qui justifie le présent rapport de stage de formation qui s'est déroulée au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC). Ce stage nous a permis d'appliquer les connaissances acquises au cours de notre formation théorique et de proposer un projet de recherche sur l'inventaire des Arthropodes nécrophages à Cotonou. Pour atteindre cet objectif, nous avons mené différentes activités sur le terrain et aux laboratoires. Des prospections larvaires ont été faites sur le terrain et l'élevage des larves des moustiques à l'insectarium du CREC. Ces moustiques après leur émergence, nous ont servi à faire l'extraction de l'ADN et la PCR-Kdr. De plus, les tests en cône et de sensibilité ont été réalisés. Notre projet de recherche sur l'inventaire des Arthropodes nécrophages contribuerait à compléter les bases de données scientifiques de la police judiciaire à Cotonou.

Mots clés : prospection larvaire, inventaire des Arthropodes, nécrophages.

Abstract

In the present context of the climatic changes, one of the most important challenges to which the local collectivities, the undertaking and the civil society cope is the one of the control of the Arthropods. It is what justifies the present report of internship training that took place in the Center of Entomological Research of Cotonou (CREC). This internship allowed us to apply the knowledge acquired during our theoretical formation and to propose a project of research on the inventory of the necrophagous Arthropods in Cotonou. To reach this objective, we led different activities on the land and to the laboratories. Some larval prospectings have been made on the land and the raising of the larvas of the mosquitos to the insectarium of the CREC. These mosquitos after their emergence, served us to make the extraction of the DNA and the PCR-Kdr. Besides, the tests in cône and sensitivity have been achieved. Our project of research on the inventory of the necrophagous Arthropods would contribute to complete the scientific data bases of the judicial police in Cotonou.

Key words: larval prospecting, inventory of the Arthropods, necrophagous.

Table des matières	
Remerciements	ii
Résumé	ii
Abstract	iii
Table des matières	iv
Liste des sigles et abréviations	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Introduction	1
1- Objectifs du stage	2
1-1- Objectif général	2
1-2- Objectifs spécifiques	2
2- Description du Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou (CREC)	3
2-1- Cadre physique du CREC	3
2-2- Personnel	4
2-3- Thématiques de recherche du lieu de stage	4
2-4- Activités menées	5
2-4-1-Activités menées à l’insectarium et à l’animalerie	5
2-4-2-Activités menées au laboratoire de biologie moléculaire	8
2-4-3-Activités menées au laboratoire de contrôle de qualité	9
2-4-4-Activités menées au laboratoire d’entomologie appliquée	10
2-5- Difficultés rencontrés au cours du stage	11
3-projet de recherche : Inventaire des Arthropodes nécrophages à Cotonou	12
Introduction	13
3-1-Synthèse bibliographique	15
3-2- Méthodologie	17
3-2-1- Description du site d’étude	17
3-2-2-Collection des Arthropodes	18

3-2-3- Identification des insectes	18
3-3- Résultats attendus.....	19
Conclusion.....	20
Références bibliographiques	21
Annexes	23

Liste des sigles et abréviations

CAME : Centrale d'Achats des Médicaments Essentiels

CENATEL Centre National de Télédétection

CNRFP : Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme

CREC : Centre de Recherche Entomologique de Cotonou

FAST : Faculté des Sciences et Techniques

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

LEBA : Licence Evolution Biodiversité des Arthropodes et Assainissement

LIN : Lutte contre les Insectes Nuisibles

LLIP : Laboratoire de Lutte Intégré contre le Paludisme

LMI : Laboratoire Mixte International

MIE : Master International en Entomologie

MRTC: Malaria Research Training Center

MS : Ministère de la Santé

OCEAC : Organisation de Coordination pour les Endémies en Afrique Centrale

PID : Pulvérisation intra-domiciliaire

SOBEPEC : Société Béninoise des Peintures et Colorants

UAC: Université d'Abomey-Calavi

Liste des tableaux

Tableau : Programme des travaux à l'insectarium du CREC

Liste des figures

Figure 1 : Prospection larvaire

Figure 2 : Disposition des barques au lavarium

Figure 3 : Récolte des moustiques adultes

Figure 4 : Gorgement des cages de reproduction

Figure 5 : Vue partielle de l'animalerie du CREC

Figure 6 : Ecrasement des moustiques

Figure 7 : Disposition des microtubes pour la centrifugation de l'ADN

Figure 8 : Réalisation du test en cône

Figure 9 : Carte de la Ville de Cotonou indiquant la localisation du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou

Introduction

Le développement d'une Nation passe, entre autres, par la formation reçue par ses citoyens. Cette formation doit être en adéquation avec les besoins du marché de l'emploi pour éviter le gaspillage des ressources impliquées dans celle-ci. Dans le contexte actuel des changements climatiques, l'un des plus importants défis auxquels les collectivités locales, les entreprises et la société civile font face est celui du contrôle des Arthropodes avec des approches qui prennent en compte leur évolution, leur adaptation au milieu, leur biodiversité ainsi que l'assainissement du milieu de vie. L'Etat béninois s'est donc engagé dans la formation de jeunes cadres compétents pour relever ces défis. C'est dans cette optique que des autorités de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) ont réfléchi et créé la Licence Evolution Biodiversité des Arthropodes et Assainissement (LEBA). Cette formation a embrassé un domaine d'étude de la zoologie, très large qu'est l'étude des Arthropodes et en particulier les insectes. Ceux-ci occupent plus de la moitié du règne animal et colonisent tous les écosystèmes : terrestre, aquatique à l'exception des mers et des océans. Les insectes sont dominants dans ces milieux non seulement par leur diversité, mais aussi par leur densité ou biomasse (Wyss & Chérix 2006). Survivants des grands cataclysmes terrestres, le succès des insectes est lié à leur exploitation extraordinaire de la majorité des habitats terrestres et à leur facilité d'adaptation aux conditions au cours de ces temps géologiques. Ce succès est aussi lié en partie à la diversité de leurs régimes alimentaires et leurs places dans les différents niveaux trophiques des écosystèmes.

Bien qu'en général ces êtres soient source de nombreuses nuisances en agriculture, en santé humaine et autres, certains d'entre eux sont utiles dans les domaines médicaux et forensique grâce à leur morphologie, biologie et alimentation. On distingue habituellement 5 types généraux d'alimentation chez les insectes, les détritivores ou saprophages, les fongivores, les herbivores, les mangeurs d'algues et de mousses et pour finir les carnivores.

Cette diversité d'alimentation offre aux insectes la possibilité d'appartenir à toutes les chaînes alimentaires et d'enrichir ainsi la diversité des êtres vivants. Il serait alors très intéressant de bien connaître les Arthropodes dans les conditions de terrain pour en tirer profit.

C'est ce qui a justifié notre mise en stage dont l'aboutissement est la rédaction du présent mémoire qui rapporte les activités menées au cours de notre stage et la présentation d'un projet de recherches portant sur l'inventaire des Arthropodes nécrophages au service de la Police Judiciaire à Cotonou.

1- Objectifs du stage

1-1- Objectif général

L'objectif général visé par ce stage est de mettre en pratique nos connaissances acquises en lien avec les activités du Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou.

1-2- Objectifs spécifiques

- Appréhender les pratiques du laboratoire de recherche et les notions relatives à l'élevage des moustiques.
- Proposer une étude pour l'inventaire des Arthropodes d'intérêt forensique à Cotonou.

2- Description du Centre de Recherches Entomologiques de Cotonou (CREC).

2-1- Cadre physique du CREC

Le CREC, situé dans la commune de Cotonou au Bénin, est un centre qui fait des recherches sur les insectes en général dont notamment les vecteurs du paludisme. Ce centre est le lieu où notre stage a été effectué. Situé dans la zone industrielle de Cotonou, le CREC est installé dans la même enceinte que le Service National des Laboratoires de Santé Publique. Il est limité :

- au nord par le Centre National de Télédétection (CENATEL);
- au sud par le Bâtiment ayant abrité la Centrale d'Achats des Médicaments Essentiels (CAME);
- à l'est par la Société Béninoise des Peintures et Colorants (SOBEPEC);
- à l'ouest par le Ministère de la Santé (MS).

Le CREC travaille dans un réseau dont le but est d'identifier, de caractériser et de gérer la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides en Afrique de l'Ouest. Ce réseau est constitué de plusieurs centres de recherches dont :

- le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, Bénin ;
- le Centre Muraz de Bobo Dioulasso, Burkina-Faso ;
- le Centre Pierre Richet de Bouaké, Côte d'Ivoire ;
- l'Institut National d'Hygiène et de Santé Publique d'Abidjan, Côte d'Ivoire ;
- le Laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN) de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Montpellier en France ;
- Malaria Research Training Center (MRTC) de Bamako au Mali ;
- l'Organisation de Coordination pour les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), Yaoundé au Cameroun ;
- le Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP) de Ouagadougou, au Burkina-Faso.

Le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) possède six laboratoires, à savoir :

- Un laboratoire des tests insecticides
- Un laboratoire d'identification des espèces de moustiques et surtout des vecteurs;
- Un laboratoire de parasitologie;
- Un laboratoire de biologie moléculaire;
- Un laboratoire de contrôle de qualité des outils de lutte anti vectorielle;

- Un laboratoire d'entomologie appliquée
- Un larvarium où on élève les larves des moustiques,
- Un insectarium où on élève les adultes des moustiques (imago),
- Une animalerie où on élève des animaux qui servent à gorger les moustiques femelles pour leur reproduction.

Toujours dans l'optique de réduire le taux de prévalence du paludisme au Bénin, à l'insectarium du CREC, trois genres de moustiques sont séparément élevés : *Anopheles*, *Culex* et *Aedes*.

2-2- Personnel

Le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou est un grand centre disposant d'un personnel qualifié à savoir :

- Professeur Martin AKOGBETO, Directeur du CREC.
- Monsieur Médard YAMADJAKO, Chef des services administratif et financier (CSAF)
- Madame DURANT Clémence, Chef secrétariat
- Docteur NAHUM Alain, responsable de l'Unité de Parasitologie
- Docteur Razacki OSSE, responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire
- Monsieur Sébastien KOUDENOUKPO, responsable de l'Insectarium
- Monsieur Idelphonse AHOGNI, responsable du Laboratoire de Contrôle de Qualité.
- Docteur Germain Gil PADONOU, responsable du Laboratoire d'Entomologie Appliquée.
- AMIDOU, le gardien du Centre.

2-3- Thématiques de recherche du lieu de stage

Le CREC travaille actuellement sur plusieurs sujets de recherche dont nous pouvons citer :

- ✚ Biologie et caractérisation des vecteurs du paludisme ; étude de la résistance des vecteurs aux insecticides ; évaluation de l'efficacité des insecticides et des moustiquaires imprégnées.
- ✚ Inventaire et biologie des Arthropodes d'intérêt forensique à Cotonou.
- ✚ Déterminants environnementaux, bases génétiques de la résistance puis son impact sur l'efficacité des outils de lutte chez les vecteurs du paludisme au Bénin, Afrique de l'Ouest.

- ✚ Dynamique de transmission de *Plasmodium falciparum* par les populations naturelles de *Anopheles gambiae* s.l et détermination des mécanismes de résistance aux insecticides à Bangui, République Centrafricaine.
- ✚ Rôle de l'hétérogénéité écologique et géographique dans la distribution des gènes de résistances aux insecticides chez le principal vecteur du paludisme, *Anopheles gambiae* s.l et les implications pour une lutte efficace contre cette espèce d'insecte.

2-4- Activités menées

Au cours de notre stage, nous avons eu l'opportunité de mener plusieurs activités sur le terrain et dans les laboratoires du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou.

2-4-1-Activités menées à l'insectarium et à l'animalerie

A l'insectarium du CREC, plusieurs genres de moustiques (*Aedes*, *Culex* et *Anopheles*) sont élevés (figures 1 et 2) pour servir de matériel de travail pour les différentes activités dans les laboratoires de recherche. Nous avons participé aux activités d'élevage conformément à la programmation du tableau I ci-dessous.

Tableau I : Programme des travaux à l'insectarium du CREC.

Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Récupérer adultes et ou nymphe	Récupérer adultes et ou nymphe	Récupérer adultes et ou nymphe	Récupérer adultes et ou nymphe	Récupérer adultes et ou nymphe	Récupérer adultes et ou nymphe	Récupérer adultes et ou nymphe
Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves	Nourrir les larves
Changer les jus sucrés		Changer les jus sucrés		Changer les jus sucrés		
Gorger toutes les cages de reproduction		Gorger toutes les cages de reproduction		Gorger toutes les cages de reproduction		
	Mettre les pondoirs		Mettre les pondoirs		Mettre les pondoirs	
		Mettre en eau les pontes		Mettre en eau les pontes		Mettre en eau les pontes
	Diviser les larves L1			Diviser les larves L1		Diviser les larves L1 Premier gorgement

NB : la première cage qui sort chaque semaine doit servir à la reproduction et tout matériel doit être lavé après utilisation.



Figure 1 : Prospection larvaire



Figure 2 : Disposition des barques au larvarium

Signalons que différentes souches de moustiques sont élevées séparément à savoir : une souche sensible dont les œufs proviennent de Kenya (souche Kisumu), une souche résistante VK-PER du Burkina Faso et des souches sauvages qui sont encore appelées les souches de terrain dont les larves ont été collectées dans des gîtes lors des prospections larvaires. Les larves des moustiques sont élevées au larvarium et les adultes sont élevés à l'insectarium. Les adultes sont nourris au jus sucré (miel dilué). Mais trois jours après, les femelles des moustiques sont soumises à une prise de repas sanguin afin d'assurer la maturation de leurs ovaires pour la ponte. Les moustiques du genre *Anopheles* sont les plus élevés à cause des objectifs de recherche du CREC centrés sur la lutte contre le paludisme.



Figure 3 : Récupération des moustiques adultes **Figure 4 :** Gorgement des cages de reproduction

Pour fournir aux moustiques leur repas sanguin, nous utilisons des lapins, des cobayes et des pigeons qui sont élevés à l'animalerie du CREC. Chaque matin, nous procédons au nettoyage de l'animalerie (Figure 5) et fournissons de la provende, des feuilles de palme et des feuilles de manguier aux animaux.



Figure 5 : Vue partielle de l'animalerie du CREC

2-4-2-Activités menées au laboratoire de biologie moléculaire

Dans le laboratoire de biologie moléculaire, nous avons fait l'extraction de l'ADN au CTAB sur moustique entier (Figure 6 et 7). Nous avons fait la PCR-Kdr pour déterminer les mutations Kdr et la PCR de diagnostic de la forme moléculaire (Voir protocole en annexe). Pour faire l'extraction de l'ADN, nous avons broyé individuellement les moustiques entiers dans les tubes eppendorf dans 200 μ L de CTAB à 2%. Après 5 minutes au bain-marie à 65°C, le broyat de chaque tube a été mélangé avec 200 μ L de chloroforme puis centrifugé pendant 5 minutes à 12000 rpm à température ambiante. Nous avons récupéré délicatement le surnageant dans un autre tube avec 200 μ L d'isopropanol, bien mélangé par inversion puis nous l'avons centrifugé pendant 15 minutes à 12000 rpm à température ambiante. Nous avons vidé l'isopropanol, bien égoutté et ajouté 200 μ L d'éthanol à 70% au culot. Ensuite, nous avons centrifugé l'ensemble pendant 5 minutes à 12000 rpm, à température ambiante et le contenu du tube a été délicatement renversé afin de conserver le culot qui a été ensuite séché pendant au moins 3 heures sur la paillasse. Enfin, nous avons ajouté 20 μ L d'eau distillée au culot, puis laissé en suspension sur la paillasse pendant toute la nuit ou une demi-journée.



Figure 6 : Ecrasement des moustiques



Figure 7 : Disposition des tubes eppendorf dans la centrifugeuse

Nous avons soumis l'ADN extrait à la technique d'amplification d'ADN qui permet d'obtenir un grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie (PCR). Chaque cycle de PCR a comporté trois étapes définies comme suit: une dénaturation initiale de l'ADN à 94°C pendant 3 minutes, suivie de 35 cycles comprenant chacun une phase de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une phase d'hybridation des amorces à 55°C pendant 30 secondes et une phase d'élongation à 72°C pendant 30 secondes. Après cette amplification, nous avons fait migrer le produit PCR dans un gel préparé en mélangeant 3 à 4 g d'agarose et 200 mL de TBE 1X dans

un Erlen. Ce mélange a été mis dans une micro-onde et surveillé jusqu'à l'ébullition. Après l'ébullition, nous avons laissé le mélange se refroidir à 45°C environ puis nous lui avons ajouté 12 µL de TBE. Le gel a été coulé dans un plateau de moulage dans lequel nous avons réalisé des puits à l'aide des peignes. Au bout de 30 minutes environ, le gel déjà refroidi et solide a été déposé dans la cuve de migration contenant le tampon TBE. Ensuite, nous avons mélangé 18 µL du produit à 5 µL de Bleu de Bromophénol et déposé dans chaque puits. A la fin de la migration, l'estimation de la taille des fragments d'ADN a été faite sous l'ultra-violet par comparaison de la hauteur de migration de la bande de chaque échantillon avec l'échelle de différentes tailles moléculaires chargées simultanément dans d'autre puits.

2-4-3-Activités menées au laboratoire de contrôle de qualité

Dans ce laboratoire, nous avons fait le test en cône pour déterminer l'efficacité des moustiquaires aux insecticides. Nous avons fixé deux cônes standards sur chacune des cinq (05) faces de la moustiquaire à tester (Figure 8). Puis nous avons introduit 5 à 8 jeunes femelles (2-5 jours) de moustiques dans chaque cône placé sur la moustiquaire pendant 3 minutes. Toutes les faces des moustiquaires sont testées. Après l'exposition, les moustiques ont été retirés des cônes à l'aide d'un aspirateur puis transférés dans des gobelets stériles voilés sur lesquels nous avons déposé des tampons de coton imbibés de jus sucré (solution de miel diluée). Par ailleurs une lecture de Knock-down (moustiques tombés sur le dos) a été faite toutes les 05 minutes et ceci pendant 60 minutes. Nous avons inclus un témoin négatif (moustiquaire non traitée) dans chaque série de tests en cône. Après 24 heures de mise en observation, les taux de mortalités ont été enregistrés. Les essais biologiques ont été effectués à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et une humidité de $70 \pm 10\%$.



Figure 8 : Réalisation du test en cône

2-4-4-Activités menées au laboratoire d'entomologie appliquée

Dans ce laboratoire, nous avons fait le test de sensibilité pour déterminer la proportion de la population d'*Anopheles gambiae* qui est physiologiquement résistante à un insecticide particulier. Au début du test, nous avons disposé 6 tubes d'observation marqués vert et 4 tubes d'exposition marqués rouge. Des papiers rame ont été découpés suivant les dimensions de 12x15 cm et placés dans les tubes verts fixés sur les tiroirs. Nous avons amené les cages de moustiques à tester de l'insectarium au laboratoire où a eu lieu le test. Nous avons introduit 25 femelles de moustiques de 2 à 3 jours dans les tubes verts à l'aide de l'aspirateur. Puis nous les avons placés au calme pendant une heure sans eau miellée avant l'exposition pour contrôler s'il n'y avait pas eu de mortalité suite au transfert. Pendant l'heure d'observation après le comptage, les papiers imprégnés d'insecticide ont été placés dans les tubes rouges. Pour éviter une éventuelle contamination, les papiers imprégnés d'insecticides ont été manipulés avec des gants. Les tubes rouges témoins ont reçu des papiers imprégnés du mélange d'huile-acétone seul sans insecticide. Les tubes rouges ont été fixés sur le tiroir, puis après ouverture de la tirette, les femelles ont été soufflées délicatement mais le plus rapidement possible dans le tube rouge. Le tube vert est ensuite dévissé. Pendant toute la durée d'exposition, les tubes ont été maintenus en position verticale. Les moustiques sont ensuite ré-transférés dans les tubes d'observation pendant 24 heures avec un coton imbibé d'eau miellée. Après l'exposition, les papiers imprégnés ont été replacés dans leur emballage. Puis nous avons déterminé la mortalité 24 heures après l'exposition.

2-5- Difficultés rencontrés au cours du stage

Les quelques mois de stage que j'ai passé au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou m'ont permis de me familiariser avec la vie professionnelle et de garder un bon souvenir du personnel de ce Centre. Néanmoins, j'ai éprouvé quelques difficultés qui sont liées à mon déplacement de mon domicile à Calavi à Akpakpa où se trouve mon lieu de stage. Les coupures d'électricité répétées ne nous ont pas permis de travailler selon un calendrier précis.

3-Projet de recherche : Inventaire des Arthropodes nécrophages à Cotonou

Introduction

L'embranchement des Arthropodes est subdivisé en trois sous-embranchements dont les antennates ou mandibulates qui regroupent les insectes. Certains genres d'insectes appartenant à des ordres comme les diptères et les coléoptères sont d'une grande importance en médecine et en science judiciaire dont la portée n'est pas encore clairement cernée au Bénin. La branche de l'entomologie réservée à l'étude de ces insectes d'intérêt forensique qui se nourrissent des matières organiques en décomposition, est appelée entomologie forensique, ou entomologie criminelle ou encore entomologie judiciaire (Hall, 2001; Hall & Huntington, 2009). L'Entomologie forensique est une discipline à part entière des sciences forensiques. Contrairement à ce que l'on pourrait croire, l'entomologie forensique ou médico-légale n'est pas une discipline récente, donc l'utilisation des insectes en criminalistique n'est pas nouvelle. Déjà en 1894, paraissait le célèbre ouvrage de Mégnin nous parlant de la «Faune des cadavres: application de l'entomologie à la médecine légale» (Frederickx, 2011). Cependant, le premier cas d'entomologie criminelle recensé dans la littérature daterait du 13^{ème} siècle (Benecke, 2001a, 2004; Gennard, 2007). La première affaire criminelle est l'œuvre d'un enquêteur chinois qui a utilisé les insectes afin de démasquer le coupable d'un meurtre à la faucille commis au sein d'une rizière. Il faudra cependant attendre la fin du XX^{ème} siècle pour que cette discipline se développe véritablement, et soit enfin reconnue comme une science criminalistique à part entière (Charabidzé et Bourel, 2007). La création en 2002 de l'Association Européenne pour l'Entomologie Forensique (European Association for Forensic Entomology, EAFE) a vulgarisé les avancées de cette discipline un peu partout en Europe. Bien qu'étant à la mode, il faut admettre que cette science n'en est encore qu'à ses prémices en Afrique et particulièrement au Bénin.

L'intérêt de ce travail est de connaître et de faire connaître les Arthropodes qui sont d'une importance forensique et qui peuvent aider la police scientifique de notre pays lors des enquêtes criminelles. C'est pourquoi nous avons choisi de faire l'inventaire des Arthropodes nécrophages dans la ville de Cotonou.

C'est dans cette optique que la présente étude se propose comme objectif général d'inventorier la faune d'arthropode nécrophage de Cotonou utilisable à l'occasion des enquêtes judiciaires.

Il s'agit spécifiquement de :

- ✓ Collecter les échantillons des Arthropodes nécrophages sur des carcasses de lapins,
- ✓ Identifier chaque échantillon d'Arthropode nécrophage collecté sur des carcasses de lapins.

Pour atteindre ces objectifs les hypothèses suivantes ont été formulées :

- Première hypothèse : les Arthropodes nécrophages sont récoltés sur des carcasses de lapins.
- Deuxième hypothèse : les Arthropodes nécrophages récoltés sur des carcasses de lapins sont identifiés.

Pour réaliser le présent projet de recherche, la suite de notre travail portera successivement sur la synthèse bibliographique relative à notre étude, la méthodologie de recherche pour atteindre nos objectifs et la présentation des résultats attendus.

3-1-Synthèse bibliographique

Les insectes nécrophages occupent une part active dans le processus de décomposition d'un corps conduisant à sa réduction squelettique. Leurs antennes sont munies de puissants chimiorécepteurs capables de capter des molécules odorantes, favorisant l'accouplement, la reproduction, mais surtout le repérage d'une source de nourriture, en l'occurrence un cadavre. La rapidité de leur locomotion permet à certains diptères mais également à des coléoptères, lépidoptères et autres Arthropodes de vite coloniser un cadavre humain ou animal. Ce processus de colonisation débute par une ponte d'œufs de Diptères dans des zones privilégiées dont les yeux, les orifices naturels, les blessures et les plis cutanés (Gaudry & al, 2007). Au sein des différents écosystèmes, parmi les animaux consommateurs de débris, les insectes nécrophages sont les plus spécialisés, associés aux décomposeurs, ils participent à la minéralisation des matières organiques. Leur rôle est donc primordial au sein des écosystèmes terrestres où ils remplissent la fonction "d'éboueurs entomologiques" (Leclercq & Verstraeten, 1993). Les insectes nécrophages et/ou nécrophiles, principalement des Diptères et des Coléoptères, utilisent le micro-habitat créé par le cadavre comme un substrat nourricier, un site de reproduction, un refuge ou encore comme un territoire de chasse. Ils sont généralement les premiers organismes à arriver sur le corps peu après la mort et le colonisent selon une séquence plus ou moins prédictible (Smith, 1986). La décomposition du corps entraîne des changements physiques et biochimiques importants, il émet des odeurs plus attractives pour certaines espèces et d'autres moins attractives (Dekeirsschieter, 2012). En fonction de leurs caractéristiques écologiques, on rencontre quatre groupes écologiques d'insectes autour d'un cadavre : les espèces nécrophages, nécrophiles, omnivores et opportunistes (Dekeirsschieter, 2012), une cinquième catégorie est parfois citée, il s'agit des espèces dites accidentelles dont la présence sur le corps est le fait du hasard (Arnaldos & al, 2005). Parmi les insectes nécrophages, deux ordres sont largement présents sur les carcasses animales en décomposition: les diptères et les coléoptères (Hall, 2001 ; Wyss & Cherix, 2006 ; Hall & Huntington, 2009). L'utilisation de l'entomologie à des fins médico-légales n'est pas récente (Benecke, 2001 ; Benecke, 2004 ; Gennard, 2007). La première affaire criminelle résolue avec l'aide des insectes date du 13^{ième} siècle en Chine. Un assassin avoua sa faute lorsque, durant l'interrogatoire des suspects, des diptères de la famille des Calliphoridés ont été attirés par des traces invisibles de sang sur sa faucille (Gennard, 2007). C'est le docteur Louis François Etienne Bergeret (1814-1893) qui au milieu du XIX^{ème} siècle, a eu l'idée de recourir à l'examen des insectes présents sur un cadavre pour tenter de dater le décès d'un nouveau-né dont les restes avaient été découverts dans une maison. Il a estimé que

les insectes les plus anciens, en l'occurrence des mouches, qu'il avait trouvés sur la dépouille de cette petite victime, étaient issus d'une ponte qui datait de 1848, soit deux ans avant la découverte du cadavre. La piste fut remontée jusqu'aux personnes qui avaient occupé la maison cette année-là. Il faudra ensuite attendre l'année 1985 pour que les premiers protocoles de prélèvements d'insectes sur les scènes de crime soient publiés dans le "Journal de Médecine Légale et de Droit Médical" (Leclercq & Brahy, 1985). La première véritable Association pour l'entomologie forensique (EAFE) a pour but de promouvoir son développement à travers l'Europe, d'élever le niveau de compétences des différents acteurs de cette discipline ainsi que de standardiser les protocoles d'échantillonnage d'insectes sur les cadavres et scènes de crimes (Klotzbach & *al*, 2004 ; Wyss & Cherix, 2006 ; Gennard, 2007).

3-2- Méthodologie

3-2-1- Description du site d'étude

Le Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) est le cadre où la présente étude sera menée. Ce Centre est situé dans la zone industrielle de Cotonou (figure 9). Le climat est sous-équatorial et marqué par deux saisons sèches (août-septembre et décembre-mars) et deux saisons pluvieuses (avril-juillet et octobre-novembre). Les températures moyennes mensuelles s'étendent de 26 à 32°C. La précipitation moyenne annuelle est de 1300 mm et la température moyenne annuelle fluctue entre 19°C et 33°C (Suchel, 1987). Le paysage de cette partie de Cotonou se caractérise par la présence d'*Elaeis guineensis* (Arecaceae) et *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae).

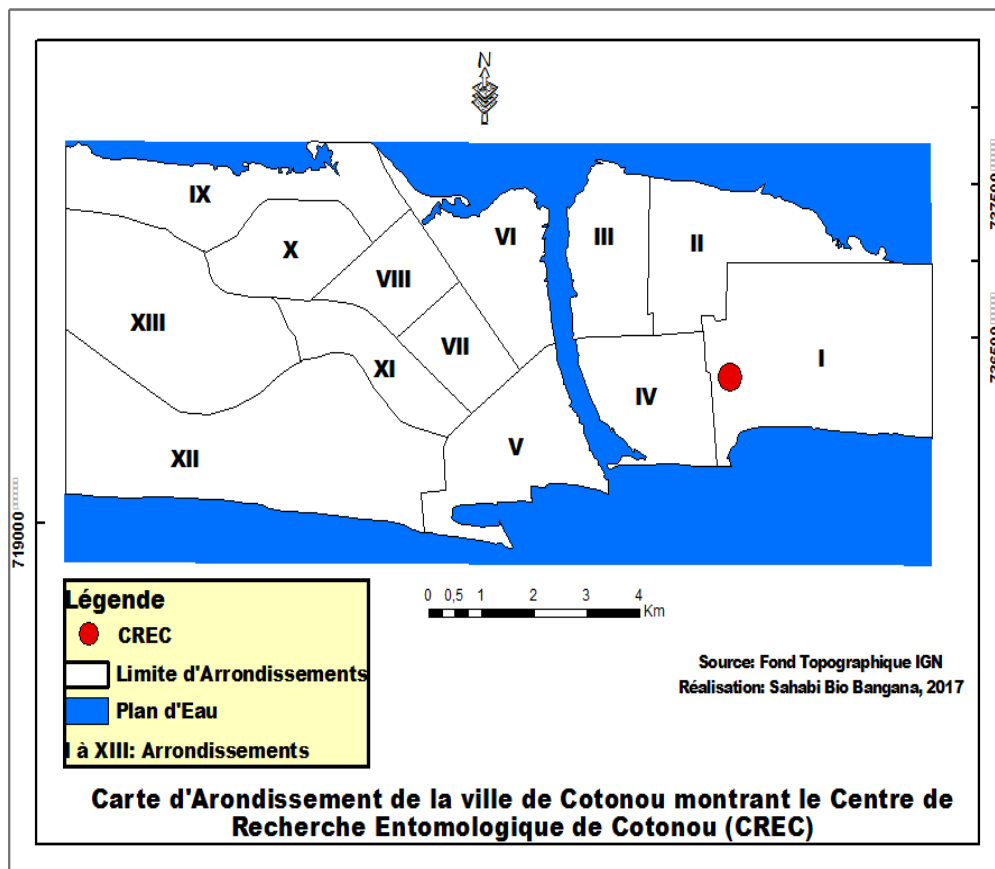


Figure 9 : Carte de la Ville de Cotonou indiquant la localisation du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou

3-2-2-Collection des Arthropodes

Pour la quête des Arthropodes, deux lapins seront utilisés, afin de maximiser le nombre d'individus capturés. Les lapins seront pesés à l'aide d'une balance. Chaque lapin sera tué par des coups brusques portés sur sa tête avec une tige métallique. Ensuite chaque lapin sera disposé dans un piège à mouche de type Upton (1991) modifié au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou.

Les pièges seront placés à découvert à 25m l'un de l'autre dans la cour du CREC, qui dispose d'un ensoleillement maximal et d'un environnement ouvert facilitant l'accès des insectes volants. Le piège et les carcasses de lapin seront protégés des oiseaux par une grille métallique. Un thermomètre suspendu à l'intérieur de la cage permettra de relever la température ambiante quotidienne. L'échantillonnage des Arthropodes nécrophages sera réalisé grâce à une bouteille de prélèvement où montent les Arthropodes. Les Arthropodes seront prélevés à 9 heures et à 13 heures, soit deux fois par jour pendant 45 jours. Un échantillonnage manuel sera utilisé pour recueillir les Arthropodes rampants sur les carcasses et le sol environnant. Les Arthropodes recueillis seront anesthésiés avec de l'éther diéthylique et conservé dans de l'éthanol à 70%.

3-2-3- Identification des insectes

L'identification s'opèrera par l'observation des caractères morphologiques et biométriques de l'Arthropode sous microscope à caméra. L'utilisation d'ouvrages de référence contenant des clés de détermination morphologique (Delvare & Alberlenc ,1989 ; Smith ,1986; Claudio & Cátia, 2008 ; Prins, 1982 ; Couri, 2007) permettra, en fonction de l'état ou du stade de développement atteint, de progresser dans la détermination jusqu'à l'espèce.

3-3- Résultats attendus

Nos travaux conduiraient aux résultats suivant :

- Les Arthropodes nécrophages sont disponibles à Cotonou sur des carcasses de lapins qui leurs constituent un refuge et une source de nourriture.
- Les Arthropodes nécrophages qui se nourrissent directement du cadavre sont des diptères, coléoptères, lépidoptères, acariens, etc.
- Les Arthropodes nécrophiles qui se nourrissent des autres espèces animales précédentes, on y trouve des prédateurs ou des parasites des nécrophages,
- Les Arthropodes omnivores qui se nourrissent du cadavre et des autres insectes sont présents. On trouve quelques hyménoptères ou quelques coléoptères,
- Les Arthropodes opportunistes utilisant le cadavre comme un refuge, ces derniers ne sont pas utiles en entomologie forensique. On rencontre certains arachnides ou des collemboles.

Il y a majoritairement deux ordres d'insectes qui sont attirés par les cadavres : les diptères et les coléoptères. Les diptères nécrophages appartiennent à plusieurs familles dont les plus importantes sont les Calliphoridaés, les Sarcophagidés, les Muscidés, les Fanniidés, les Piophilidés et les Phoridés. Chez les coléoptères, les principales familles sont les Sylphidés, les Histéridés et les Dermestidés.

Conclusion

L'objectif de la présente étude est l'obtention d'un ensemble de données faunistiques d'aide à la réalisation d'expertises en entomologie médico-légale. Au terme du travail, nous nous sommes rendu compte que Cotonou disposerait d'une gamme d'insectes nécrophages pouvant être utiles à la police judiciaire. Il s'agit des insectes appartenant aux ordres des Diptères et des Coléoptères. Les diptères nécrophages appartiennent à plusieurs familles dont les plus importantes sont les Calliphoridae, les Sarcophagidae, les Muscidae, les Fanniidae, les Piophilidae et les Phoridae. Les coléoptères, quant à eux, sont de la famille des Silphidae, Histriidae et Dermestidae. Etant donné que les caractères morphologiques seuls ne permettent pas une identification fine des espèces d'Arthropodes, les techniques de biologie moléculaire en plein essor de nos jours permettraient de compléter la présente étude pour la détermination des espèces. Par ailleurs l'étude des aspects de la biologie du développement des insectes nécrophages à Cotonou permettra d'améliorer la précision et la fiabilité des expertises entomologiques.

Références bibliographiques

- 1- Arnaldos M.I., Garcia M.D., Romera E., Presa J.J., Luna A. (2005). **Estimation of post-mortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence.** *Forensic Science International* **149**: 57-65.
- 2- Benecke,(2001a, 2004),. Gennard, (2007). **L'entomologie forensique, les insectes résolvent les crimes - PoPuPS HISTORIQUE.** <http://popups.ulg.ac.be/2030-6318/index.php?id=2279&file=1>.
- 3- Charabidzé D., Bourel B. (2007). **Entomologie médico-légale: les insectes au service de la justice.** *Insectes* **147**: 29-32
- 4- Dekeirsschieter Jessica (2012). **Etude des interactions entre l'entomofaune et un cadavre: approches biologique, comportementale et chémo-écologique du coléoptère nécrophage, *Thanatophilus sinuatus* Fabricius (Col., Silphidae)**
- 5- Delvave G., Aberlenc H.P. (1989) **Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale. Clés pour la reconnaissance des familles.** Montpellier : CIRAD-GERDAT, 302p
- 6- Frederickx C. (2011). **L'entomologie forensique, les insectes résolvent les Crimes** Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive, Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail: entomologie.gembloux@ulg.ac.be
- 7- Gaudry E., Dourel L., Chauvet B., Vincent B. & Pasquerault T. (2007). **L'entomologie légale: Lorsque insecte rime avec indice.** *Revue Francophone des Laboratoires* **392**, p. 23-32.
- 8- Gennard D.E. (2007). **Forensic Entomology: an Introduction.** Ltd John Wiley & Sons, 224p.
- 9- Hall R.D. & Huntington T.E. (2009). **Introduction: Perception and Status of Forensic Entomology.** *In J.H. Castner and J.L. Byrd (éds.), Forensic Entomology: the Utility of Arthropods in Legal Investigations, Vol. 2*, p. 1-16. CRC Press, Boca Raton
- 10- Hall R.D, (2001); Hall & Huntington(2009). **l'entomologie des denrées stockées et celle qui nous intéresse, l'entomologie criminelle.** PoPuPS<http://popups.ulg.ac.be/2030-6318/index.php?id=2279&file=1> "urbaine
- 11- Klotzbach H., Krettek R., Bratzke H., Puschel K. Zehner R. & Amendt J. (2004). **The history of forensic entomology in German-speaking countries.** *Forensic Science International* **144**(2-3), p. 259-263
- 12- Leclercq M. & Brahy G. (1985). **Entomologie et Médecine légale. Datation de la mort.** *Journal de Médecine Légale Droit Médical* **28**, p. 271-278

- 13-Leclercq M. & Verstraeten C. (1993). Entomologie et Médecine légale: L'entomofaune des cadavres humains: sa succession par son interprétation, ses résultats, ses perspectives.** *Journal de Médecine légale Droit Médical* **36**(3-4), p. 205-222.
- 14-Smith K.G.V.(1986). A Manual of forensic entomology.** British Museum, (Natural History), London and Cornell University Press, Ithaca, N.Y., 205 p.
- 15-Suchel, (1987). La prédominance de la direction des vents du cadran SW traduit l'apport permanent des pluies par la mousson.** Des données de pluie et de débit ont été collectées en zone IWRAhttp://www.iwra.org/congress/resource/abs127_article.doc milieu équatorial.
- 16-Wyss C., Chérix D. (2006). Traité d'Entomologie forensique-les insectes sur la scène du crime.** Lausanne, Presses polytechniques et universitaires romandes. 317 p

Annexes