

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL(IDR)

SECTION BIOLOGIE APPLIQUEE ET
MODELISATION DES SYSTEMES BIOLOGIQUES

ECOLE DOCTORALE DE L'IDR



MEMOIRE

PRESENTE :

OUATTARA Issiaka

Maître ès-Sciences Biologiques

POUR L'OBTENTION DU

Master II de Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques

Sur le thème :

**EFFET DU *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR.
ISRAELENسيس ET DU STRESS ALIMENTAIRE
CHEZ LES LARVES SUR LA CAPACITE ET LA
COMPETENCE VECTORIELLES D'*ANOPHELES*
*GAMBIAE S.S.***

SOUS LA DIRECTION DE:

Directeur de mémoire Dr Roch Kounbobr DABIRE Directeur de Recherche,

Co-directeur de mémoire Pr. Gorges Anicet OUEDRAOGO

Maître de stage Dr. Amélie VANTAUX

Soutenu le 13/12/2014

DEVANT LE JURY :

Président : Pr. Gorge A. OUEDRAOGO Président de l'université de Bobo-Dioulasso

Membres : Dr. Roch K. DABIRE Directeur de Recherche, IRSS/CENTRE MURAZ

Dr Thierry LEFEVRE chercheur au CNRS

TABLE DES MATIERES

DEDICACES	iv
REMERCIEMENTS	v
SIGLES ET ABREVIATIONS	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	viii
RESUME.....	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUCTION.....	1
I. REVUE DE LA LITTERATURE	3
1. Le complexe gambiae	3
1.1.3. Les gîtes larvaires.....	5
1.1.4. Les nymphes	5
1.1.5. Les imagos ou adultes	6
2.1. Cycle de développement	7
2.2. Définition de la capacité et de la compétence vectorielle	8
2.2.1. Compétence vectorielle.....	8
2.2.2. La capacité vectorielle	9
3.1. Lutte contre les adultes	10
3.2.1. Aménagement de l'environnement	11
3.2.2. Les larvicides chimiques.....	11
3.2.3. La lutte biologique contre les larves	12
4. Présentation de notre étude	13
II. MATERIEL ET METHODES.....	14
1. MATERIEL.....	14
1.1. Matériel biologique.....	14
1.2. Les matériels d'élevage.....	14
1.3. Matériel de dissection	14
2. Méthodes.....	15
2.1. Elevage des larves	15
2.2. Elevage des nymphes.....	17
2.3. Elevage des anophèles adultes.....	17
2.4. Les infections expérimentales.....	17
2.5. Méthodologie de mesure de la longévité.....	18

2.6. La dissection des moustiques	19
2.7. Analyses statistiques.....	20
3. Résultats et discussion	21
3.1. Résultats.....	21
3.1.1. Estimation de la CL50 et de la CL95 du bio-essai.....	21
3.1.2. Temps de développement aquatique.....	21
3.1.3. La longévité des femelles.....	22
3.1.4. La longueur des ailes des moustiques.	25
3.1.5. Prévalence de l' infection	26
3.1.6. Intensité de l' infection.....	28
3.2. Discussion	30
4. Conclusion et perspectives.....	33
4.1. Conclusion	33
4.2. Perspectives.....	33

DEDICACES

*Je dédie ce mémoire à toute la famille **OUATTARA** :*

A mon père OUATTARA Bakary

Mon guide et mon repère, tu as su me donner une éducation basée sur les principes de travail bien fait et d'honnêteté.

A ma mère chérie OUATTARA Tata,

Merci infiniment pour tes bénédictions et les sacrifices que tu as consentis pour tes enfants. Tu es mon modèle et une source d'inspiration inépuisable pour moi. Que Dieu te garde encore près de nous pour longtemps.

A mes frères et sœurs, l'entente et la solidarité fraternelle au sein desquelles j'ai évolué m'ont été d'une aide inestimable durant mes cursus scolaire et universitaire. Vous m'avez beaucoup soutenu financièrement et moralement que Dieu vous garde et vous donne satisfaction dans vos entreprises futures.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS). Il a bénéficié d'un appui financier du projet 'EMMA', fruit d'une collaboration Nord-sud entre l'Institut de Recherche et de Développement (I.R.D.) et l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (I.R.S.S.). Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à tous ceux dont le soutien, la compréhension et la collaboration à différents égards m'ont permis de mener à bien ce travail. Nos remerciements vont particulièrement :

Au Pr Georges Anicet OUEDRAOGO, Président de l'Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, pour l'opportunité que vous m'aviez offerte afin d'approfondir mes connaissances à travers ce Master. Votre sens d'écoute des préoccupations des étudiants m'a été d'un grand soutien. Il n'est pas aisé de vous remercier en quelques lignes.

A Monsieur le Directeur Régional de l'IRSS Pr. Jean Bosco OUEDRAOGO, pour m'avoir délivré une lettre de recommandation et de m'avoir accordé un stage académique dans son institution

Au Dr Roch K. DABIRE, pour m'avoir accueilli au sein de votre équipe. Cet environnement convivial que vous entretenez avec vos étudiant(e) (s), m'a permis d'évoluer, tout au long de cette étude dans les meilleures conditions possibles.

Au Dr Amélie VANTAUX en particulier pour votre apport scientifique, votre disponibilité, vos encouragements et vos conseils tout au long de cette étude. Votre rigueur dans les démarches scientifiques ont fait de vous un maître de stage remarquable. C'est avec un grand enthousiasme que je vous témoigne toute ma reconnaissance pour vos efforts personnels et les moyens mis à ma disposition pour la réalisation de cette étude.

Au Dr Thierry LEFEVRE pour sa rigueur et son sens du travail en équipe. Il a été très attentif à toutes mes préoccupations. Qu'il en soit vivement remercié.

Au Docteur Karine MOULINE pour avoir accepté que je pèse le larvicide et le Tetramin sur sa balance au début de cette étude.

Au Dr Serges YERBANGA pour ces encouragements.

Je tiens également à remercier pour leurs aides précieuses et leurs conseils avisés au laboratoire ou sur le terrain BAZIE Jean, DA Fulgence, DABIRE Baudoin, DIASSO Arzouma, HIEN Raymond, TAMBOULA Souleymane, TAPSOBA Hervé Jeanvier et YAMEOGO K. Bienvenue.

Participer à un jury de mémoire constitue un investissement supplémentaire pour des personnes dont le calendrier est déjà chargé. Je remercie tous les membres du jury qui ont bien voulu évaluer ce travail.

A l'ensemble du corps professoral de la Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques pour vos enseignements et vos conseils.

A mes amis: SANOU Ousman, TRAORE D. Assetou, TRAORE Idrissou, Zié Mamadou, votre soutien moral et vos encouragements m'ont permis de persévérer dans ce travail.

Aux docteurs et aux étudiants avec qui j'ai eu des relations plus qu'amicales, Dr DA Dari, Dr DA Ollo Daniel, Dr SOME Fabrice, BAZIE Thomas, HIEN François DE Salle, MAIGA Hamidou, MILLOGO Abel, N'DO Severin, PODA Serges, SOMDA Sévérin, YAO Franck, ZANGO Sylvère. Merci pour tout.

A tous les étudiants de la promotion 2012-2013 du Master de Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques notamment, HIEN Aristide, SESSOUMA Sanata, TIHO Y. Eric, TRAORE Mamadou, WANGRE Abdouramani, pour votre climat de fraternité et de soutien mutuel.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

SIGLES ET ABREVIATIONS

An. :	Anopheles
Bti :	Bacillus thuringiensis var. israelensis
CL :	Concentration Létale
CL50:	Concentration Létale 50%
CL95:	Concentration Létale 95%
DDT:	Dichloro-Diphényl-Trichloréthane
GLM:	Generalized Linear Models
GLMMs :	Generalized Linear Mixed Models
IRSS :	Institut de Recherche en Sciences de la Santé
L :	Level
LLINs :	Long Lasting Impregnated Nets
LRT :	Likelihood Ratio Test
MII :	Moustiquaire Imprégnée d’Insecticide
OMS:	Organisation mondiale de la santé
PID:	Pulvérisations Intra–Domiciliaires
s.l.:	sensu lato (sens large)
UTI :	Unité de Toxicité Internationale
WDG :	Water Dispersible Granular

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Développement sporogonique (Source : http : // ebischoff. free. fr / Palu2. html)....	8
Figure 2 : Effet de l'alimentation et de l'exposition au larvicide sur la longévité moyenne des femelles. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.....	23
Figure 3 : Effet de la gamétocytémie et de l'exposition au parasite sur la longévité moyenne des femelles Les barres d'erreur représentent l'écart-type.	23
Figure 4 : Effet de la gamétocytémie et de l'alimentation sur la longévité moyenne des femelles. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.....	24
Figure 5 : Effet de l'alimentation larvaire et de l'exposition au larvicide sur la prévalence la taille moyenne des moustiques. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.....	25
Figure 6 : Effet de la présence de microsporidie sur la prévalence de l'infection en oocyste. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance.....	26
Figure 7 : Effet de l'alimentation larvaire et de l'exposition au larvicide sur la prévalence de l'infection en oocystes. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance.....	27
Figure 8 : Effet de la gamétocytémie et de l'alimentation sur l'intensité des oocystes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.....	28
Figure 9 : Effet de la gamétocytémie et de l'exposition au larvicide sur l'intensité en oocystes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.....	29

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Régime alimentaire des groupes en fonction du stade larvaire	16
Tableau II: Nombre de moustique dont la mortalité a été relevée.	19
Tableau III : Résultat de l'analyse statistique de la CL50 et de CL95 de <i>Bti</i> en fonction de la quantité de d'aliment.....	21

RESUME

Contexte : Les recherches récentes ont montré que les traitements biolarvicides peuvent être un outil efficace pour la lutte anti-vectorielle intégrée contre le paludisme. Pourtant, l'adoption de cette intervention est entravée par une nécessité d'application fréquente et les coûts qui en découlent. D'autre part, les concentrations sub-létales de biolarvicides pourraient avoir des conséquences sur la compétence et la capacité vectorielle des moustiques et varier en fonction de la disponibilité alimentaire chez les larves. Dans cette étude, l'effet de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (VectoBac[®]WG 3 000 UIT/mg) sur la compétence et la capacité vectorielle d'*Anopheles gambiae* s.s., un des principaux vecteurs du paludisme en Afrique subsaharienne, a été évalué au laboratoire.

Méthode : Des bio-essais ont été mis en œuvre pour déterminer les concentrations létales de *Bti* chez les larves ayant reçues soit une alimentation faible soit une alimentation élevée. Par la suite, les moustiques ont été élevés en divisant les larves en quatre groupes expérimentaux recevant quatre types de traitement: une alimentation élevée, une alimentation élevée et du larvicide à une concentration sub-létale, une alimentation faible, ou une alimentation faible et du larvicide à une concentration sub-létale. L'expérience a été répétée quatre fois. Une cohorte d'adultes issus de chaque groupe expérimental a reçu soit du sang infecté par *Plasmodium falciparum* soit du sang avec des parasites inactivés (contrôle) afin d'évaluer plusieurs caractéristiques biologiques (longévité, taille des individus, prévalence et intensité de l'infection) permettant d'estimer les effets d'un stress dû à l'exposition à un larvicide et à un stress alimentaire sur la compétence et la capacité vectorielle d'*An. gambiae*.

Résultats : Une corrélation positive entre la quantité d'aliment reçu par les larves et les concentrations létales de *Bti* a été observée. La taille des adultes a augmenté tandis que le temps de développement larvaire a diminué avec la quantité d'aliment. La faible alimentation des larves de même que l'exposition des adultes au parasite du paludisme a augmenté la longévité des adultes, tandis que l'exposition au larvicide a diminué leur longévité. La présence de microsporidies a diminué la prévalence de l'infection. Les conditions de stress unique ou doublement stressantes (exposition au larvicide et faible alimentation) ont conduit à une augmentation de la prévalence de l'infection.

Conclusion : Notre étude a montré que le stress alimentaire et l'exposition à des doses sub-létales de *Bti* au cours du développement larvaire peuvent augmenter respectivement la

capacité et la compétence vectorielle d'*An. gambiae*. Ainsi, l'utilisation de VectoBac® dans la lutte anti-vectorielle pourrait conduire à une phase d'augmentation de la transmission du paludisme si les doses sont sub-létales ou lors de la diminution d'efficacité du produit au cours du temps.

ABSTRACT

Background: Recent researches have shown that biolarvicides treatments can be an effective tool for integrated vector control against malaria. However, the adoption of this intervention is hampered by a need for frequent application and associated costs. On the other hand, sub-lethal concentrations of biolarvicides could affect the vectorial competence and capacity of mosquitoes and vary depending on food availability for larvae. In this study, the effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (WG Vectobac® 3000 ITU / mg) on vector capacity and competence of *Anopheles gambiaes* s.s. larvae, one of the main vectors of malaria in sub-Saharan Africa, has been evaluated in the laboratory.

Methods: Bioassays were used to determine the lethal concentrations of *Bti* on mosquito larvae when reared on either low-or high-food quantity. Subsequently, mosquitoes larvae were reared under four types of treatment: high food, high food and larvicide at a sub-lethal concentration, low food, or low food and larvicide at a sub-lethal concentration. The experiment was repeated four times. An adult cohort from each experimental group received either *Plasmodium falciparum* infected blood or the same blood in which parasites have been inactivated (control group) in order to evaluate several biological characteristics (longevity, individual size, prevalence and intensity of infection) enabling estimate the effects due to larvicide exposure and food stress on vector competence and capacity of *An. gambiae*.

Results: A positive correlation between larval food quantity and *Bti* lethal concentrations was observed. Adult size increased while the larval development time decreased with larval food quantity. The low food quantity as well as adult parasite exposure increased adult longevity, while larvicide exposure reduced adult longevity. Microsporidia presence decreased infection prevalence. Single or double stress conditions (larvicide exposure low food quantity) increased infection prevalence.

Conclusion: Food stress and exposure to sub-lethal doses of *Bti* during larval development can increase *An. Gambiae* vectorial capacity and competence. Using Vectobac® in vector control could lead to a phase of increased malaria transmission in case doses are sub-lethal or upon reduction of larvicide efficacy.

INTRODUCTION

Le paludisme est une cause importante de maladie et de décès chez les personnes vivant dans de nombreuses régions du monde, surtout en Afrique subsaharienne. Les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action et la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations réduisent la transmission paludéenne en ciblant les moustiques adultes vecteurs et sont des composantes essentielles des programmes de lutte contre le paludisme. Toutefois, l'évolution de la résistance aux insecticides menace le contrôle des maladies transmises par les moustiques (Elissa et al., 1993, Djegbe et al., 2011, Asidi et al., 2012, Namountougou et al., 2012). C'est pourquoi, dans sa stratégie actuelle de gestion intégrée des vecteurs, la lutte anti-larvaire a récemment reçu une attention renouvelée de la communauté scientifique internationale (Yohannes et al., 2005, Chen et al., 2006, OMS, 2013).

Les densités de moustiques peuvent être réduites par la gestion des gîtes larvaires qui cible les larves de moustiques qui ont un mode de vie aquatique. Cela peut être effectué par la réduction définitive ou temporaire de la disponibilité des habitats larvaires, ou par addition de larvicide de nature chimique ou biologique aux eaux stagnantes pour tuer les individus (OMS, 2013).

L'utilisation de larvicides bactériens est une forme de gestion des gîtes larvaires. Cette méthode de lutte contre le paludisme est moins fréquemment utilisée à cause de la faible rémanence des biolarvicides et de leurs coûts. Néanmoins, elle est efficace pour diminuer le nombre de moustique (Tusting et al., 2013). Une nouvelle formulation en granulés dispersables dans l'eau du larvicide microbien *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) nommé VectoBac® WG 3 000 UIT/mg a été montré comme excellente dans la lutte contre les principaux vecteurs du paludisme dans plusieurs régions du monde (Fillinger et al., 2003, Fillinger et al., 2006, Majambere et al., 2007, Tiwari et al., 2011, Tusting et al., 2013). Cependant, la promotion de la lutte anti-vectorielle par ce larvicide bactérien est entravée par l'étroitesse de sa fenêtre d'application (7 à 10 jours) trop courte par rapport aux insecticides chimiques (OMS, 2013). Dans les habitats ouverts, naturels, le *Bti* a une demi-vie de 7 jours, et des applications de manières plus fréquentes peuvent être nécessaires (OMS, 2013). La diminution de la concentration létale de *Bti* après le traitement des gîtes pourrait être une

cause de stress pour les larves issues des œufs déposés après les traitements, stress pouvant avoir des conséquences sur la physiologie et donc la capacité vectorielle de l'adulte.

Les larves de moustiques se développent dans des habitats dont la disponibilité des ressources alimentaires varie ce qui influence le taux de croissance, la survie, la fécondité et la taille des moustiques (Lyimo et al., 1993, Takken et al., 1998). Les stress alimentaires peuvent avoir une influence sur la transmission vectorielle (Lefèvre et al., 2013). Cependant, il n'existe pas une généralité ferme de l'effet du stress alimentaire chez les larves et les adultes de moustiques sur la compétence et la capacité vectorielle. Un stress alimentaire au stade larvaire a diminué la compétence et la capacité vectorielle d'*An. gambiae* (Takken et al., 2013). Une faible accumulation des réserves nutritionnelles au stade adulte avant le repas sanguin infectieux diminue la compétence vectorielle d'*An. gambiae* (Okech et al., 2004). Néanmoins, il a été montré qu'un stress alimentaire au stade larvaire entraîne une diminution de la réponse immunitaire de l'*An. gambiae* ce qui pourrait augmenter sa compétence vectorielle (Suwanchaichinda et al., 1998). De même, une réponse immunitaire efficace de mélanisation chez *Anopheles stephensi* nécessitait une alimentation concentrée de sucre et de repas sanguin de l'adulte (Koella et al., 2002). Enfin, une carence nutritionnelle chez les larves *Aedes triseriatus* augmente la compétence vectorielle des femelles adulte au virus de la Crosse (Grimstad et al., 1991).

Aucune étude à ce jour n'a montré l'effet au stade larvaire d'une concentration résiduelle de *Bti* sur la compétence et la capacité vectorielle des moustiques à un parasite du paludisme. C'est pourquoi nous avons examiné dans cette étude de laboratoire l'effet d'une concentration stressante de *Bti* chez des larves soumises à deux régimes alimentaires (élevé et faible) sur la compétence et la capacité vectorielle d'*An. gambiae* à *P. falciparum*.

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. Le complexe *gambiae*

Le complexe *gambiae* compte huit espèces (Coetzee et al., 2013) morphologiquement identiques ayant chacune une répartition géographique en Afrique suivant des contraintes climato-écologique. Le complexe *gambiae* se compose de:

- *Anopheles gambiae* Giles, 1902
- *Anopheles coluzzii* Coetzee & Wilkerson, 2013
- *Anopheles amharicus* Hunt, Wilkerson & Coetzee, 2013
- *Anopheles arabiensis* Patton, 1904
- *Anopheles melas* Theobald, 1903
- *Anopheles merus* Doenitz, 1902
- *Anopheles bwambae* White, 1985
- *Anopheles quadriannulatus* Theobald, 1911

Anopheles gambiae, vit en sympatrie avec *An. arabiensis* dans les savanes afro-tropicales (Diabaté et al., 2004). On note une nette prédominance d'*An. gambiae* dans les zones forestières et dans les savanes humides tandis qu'*An. arabiensis* se retrouve majoritairement dans les zones sahéliennes et désertiques (Coluzzi, 1993). Les gîtes larvaires de prédilection de ces deux espèces sont des collections d'eaux douces stagnantes ensoleillées et peu chargées de matières organiques.

Au Burkina Faso *An. gambiae* et *An. coluzzii* vivent en sympatrie avec une prédominance d'*An. gambiae* à l'Ouest et d'*An. coluzzii* dans les aménagements hydro-agricoles du Centre-Est (Dabiré et al., 2009).

1.1. La morphologie et développement de l'anophèle

Chez les moustiques du genre *Anopheles*, comme chez tous les autres moustiques, le cycle de développement complet comprend quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte. Les trois premiers stades de développement (l'œuf, la larve et la nymphe) sont aquatiques et le dernier stade (adulte) est aérien. La durée de vie de chaque stade est conditionnée par des paramètres environnementaux tels que la température, l'humidité et la disponibilité des aliments (Lyimo et al., 1991).

1.1.1. Les œufs

Les œufs d'anophèles ont une longueur comprise entre 0,6 à 0,8 mm (Mouchet et al., 1991a). Ils sont isolés, de couleur sombre et de forme incurvée (Mouchet et al., 1991a). Ils

sont munis de flotteurs latéraux portant 20 à 30 stries transversales selon les espèces. Ces flotteurs remplis d'air les maintiennent à la surface de l'eau. L'éclosion, qui intervient 24 à 48 heures après la ponte, donne des larves.

1.1.2. Les larves

Les larves du premier stade ont une taille de l'ordre du millimètre. Elles subissent 3 mues et présentent 4 stades larvaires.

La larve de moustique comprend 3 parties bien différenciées qui sont :

- la tête;
- le thorax;
- l'abdomen.

La larve a la tête prognathe. On distingue au niveau de la tête, entre autres, les yeux, les antennes et les pièces buccales. Deux paires d'yeux sont observées chez la larve. Il s'agit :

- des yeux du futur adulte, composés et larges;
- des yeux larvaires, simples et petits.

La tête porte une paire d'antennes non segmentées et pourvues de soies.

Le thorax de la larve est formé de 3 segments qui sont :

- le prothorax;
- le mésothorax;
- le métathorax.

Le thorax est pourvu de nombreux groupes de soies dont l'emplacement et la forme constituent des critères de détermination des espèces.

L'abdomen des larves d'anophèles est cylindrique et se compose de 9 segments visibles :

➤ les 7 premiers segments portent des plaques sclérifiées dorsales et des soies palmées qui sont caractéristiques des anophèles

➤ le 8^{ème} segment abdominal comporte 2 orifices respiratoires : les stigmates. L'absence de siphon respiratoire est une caractéristique des anophèles.

➤ le 9^{ème} segment abdominal ou segment anal est pourvu d'un certain nombre de soies de morphologie variable. L'une de ces soies est fortement modifiée pour constituer une brosse ventrale qui sert au déplacement de la larve.

La croissance chez les larves d'anophèle est d'autant plus rapide que la température de l'eau dans laquelle elles vivent se rapproche de la température optimale pour l'espèce (25 - 30°C). Les larves sont détritivores et se nourrissent par filtration près de la surface de l'eau (Mouchet et al., 1991a).

1.1.3. Les gîtes larvaires

Les gîtes larvaires des anophèles sont constitués par des collections d'eaux, claires et ensoleillées. Golvan (1983) a classé les gîtes larvaires des anophèles en deux catégories, les gîtes naturels et les gîtes artificiels.

1.1.3.1. Les gîtes larvaires naturels

Ce sont des réceptacles qui sont remplis d'eaux de façon naturelle par les pluies ou par les crues et décrues des cours d'eau. Comme exemples, nous signalerons :

➤ les creux d'arbres dans lesquels se développent certaines espèces (*Anopheles plumbeus*); les *Bromeliaceae*, épiphytes qui vivent sur les grands arbres et accumulent l'eau de pluie à l'aisselle de leurs feuilles, dans ces gîtes très réduits vivent les larves d'*Anopheles bellator* (Golvan, 1983).

➤ les flaques d'eau résiduelles lors de la décrue des cours d'eau, les trous des rochers, les fossés et les petites mares constituent des types de gîtes préférentiels d'*An. gambiae* (Bregues et al., 1968). *Anopheles gambiae* se développe également dans les marécages à proximité des cours d'eau.

1.1.3.2. Les gîtes larvaires créés par l'homme

L'importance épidémiologique des gîtes larvaires créés par l'homme est souvent grande, car ils entraînent un déséquilibre faunistique soudain en faveur d'une espèce (Golvan, 1983). Nous noterons entre autres, les puits d'arrosage des cultures maraîchères. Les marécages partiellement drainés et utilisés comme pâturage ou terrain de culture, les rizières peu après la mise en eau, les empreintes de roues d'automobiles constituent également des gîtes potentiels d'*An. gambiae* (Bregues et al., 1968).

Les caniveaux aux eaux non encore polluées des quartiers urbains, et les collections d'eaux sur les chantiers de construction, sont des gîtes non-négligeables d'anophèles. D'autres gîtes artificiels tels les abreuvoirs pour bétail, citernes, puits, pirogues échouées, gouttières bouchées, empreintes de pas dans les rives boueuses des rivières, etc. sont susceptibles de servir de gîtes aux anophèles (Golvan, 1983).

1.1.4. Les nymphes

La nymphe naît de la mue du quatrième stade larvaire. La nymphe comporte deux parties :

➤ le céphalothorax, portant 2 trompettes respiratoires. Ces trompettes à extrémités hydrophobes traversent la surface de l'eau et assurent la respiration aérienne de la nymphe.

➤ l'abdomen comprenant 8 segments bien visibles. Le 8ème segment porte une paire de palettes natatoires. Les nymphes ne se nourrissent pas (Mouchet et al., 1991a). La durée du stade nymphal a été évaluée à 24h chez les espèces du complexe *gambiae* (Coz, 1973). Pendant la période nymphale l'insecte subit de profondes transformations morphologiques. En effet, l'adulte est préformé à la fin de ce stade (Mouchet et al., 1991a).

1.1.5. Les imagos ou adultes

Le moustique adulte a un corps allongé, de 5 à 20 millimètres de long (Rodhain, 1985). Le corps comporte trois parties : la tête, le thorax, l'abdomen.

- **La tête**

Elle comprend deux yeux composés, de nombreuses ommatidies s'étendant sur les faces latérales, mais aussi sur une grande partie de la face dorsale et sur la face ventrale. Entre les yeux s'insèrent deux antennes constituées de 15 articles chez les mâles, 16 chez les femelles. Chez les mâles, elles portent de longs et nombreux verticilles de soies (antennes plumeuses). Chez les femelles, les soies sont plus courtes et nettement moins nombreuses (antennes glabres). En dessous des antennes et de part et d'autre du proboscis se situent deux palpes maxillaires penta-articulés. Les palpes maxillaires sont longs, dilatés ou non à leur extrémité, suivant le genre et le sexe. Les six pièces buccales, transformées en stylets vulnérants, se disposent dans une gouttière formée par le labium pour constituer la trompe vulnérante. Le labium présente à son extrémité deux languettes mobiles appelées labelles.

- **Le thorax**

Il est globuleux, composé de trois segments soudés : prothorax, mésothorax et métathorax, dont chacun présente une partie dorsale (tergite) et une partie ventrale (sternite), et des pièces latérales (pleurites). Sur chacun de ces segments s'insère une paire de pattes et une paire de stigmates. Les pattes comprennent du corps vers l'extrémité : la hanche, le trochanter, le fémur, le tibia et un tarse subdivisé en cinq parties dont le dernier segment porte deux griffes, un empodium et deux pulvilles. Le mésothorax, très développé, porte en plus une paire d'ailes et un prolongement appelé scutellum. Les ailes comportent trois parties : l'alula et la frange alaire de petites tailles et l'aile proprement dite plus étendue. La membrane de l'aile, transparente, est soutenue par des nervures longitudinales et transversales qui

délimitent des cellules. En outre, ces nervures portent des écailles et le bord postérieur de l'aile est orné d'une frange d'écailles. Des écailles de formes, de couleurs et de dispositions variées, couvrent également les segments thoraciques et les pattes. Le métathorax porte une paire de stigmates et une paire de balanciers (ou haltères).

- **L'abdomen**

Il possède dix segments, dont huit visibles. Chacun d'eux présente également un tergite et un sternite reliés par les pleurites. Ces segments sont ornés de soies et d'écailles de couleur et de disposition variées. Le dixième segment porte le génitalia pour le mâle (phallosome) et les cerques pour les femelles.

2. Rôle des *An. gambiae* dans la transmission du paludisme

2.1. Cycle de développement

Le paludisme est une parasitose due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Larivière (1987) résume le cycle des plasmodies comme suit : au cours de leur cycle biologique, les plasmodies changent constamment de taille et de morphologie ainsi que d'habitat. Chez l'homme s'effectuent les multiplications asexuées (schizogonies), dans les cellules parenchymateuses du foie d'abord (schizogonie exo-érythrocytaire ou stade tissulaire du parasite), puis à l'intérieur des globules rouges (schizogonie endo-érythrocytaire). Chez l'anophèle se déroule le développement sporogonique ou sexué (Figure 1).

La transmission réussie des parasites du paludisme entre les humains nécessite une série de transformations complexes de développement à l'intérieur du moustique vecteur. En effet, lors de la prise d'un repas de sang sur un homme infecté, l'anophèle ingère différents stades érythrocytaires du parasite (corps en rosaces, schizontes, gamétocytes). Dans l'estomac du moustique, les éléments asexués sont digérés. Le gamétocyte femelle s'arrondit et donne un unique gamète femelle, le gamétocyte mâle se divise en quatre gamètes mâles mobiles, de forme filamenteuse. La fécondation du gamète femelle par le gamète mâle (12) donne un zygote (13) mobile, l'ookinète, qui est le seul stade diploïde du cycle. Après la division méiotique, l'ookinète (14) traverse la paroi stomacale de l'anophèle, se fixe sous la paroi épithéliale et donne l'oocyste (15, 16) dans lequel s'individualisent les sporozoïtes. Une fois libérés dans l'hémolymphe après éclatement de l'oocyste (17), les sporozoïtes gagnent les glandes salivaires (18) : la femelle est alors infectante et épidémiologiquement dangereuse.

Les sporozoïtes seront transmis à l'homme lors d'un nouveau repas de sang du moustique. La femelle infestée injecte généralement une quantité inférieure à 1% de la charge sporozoïtaire localisée dans ses glandes salivaires dans le sang de son hôte (Beier et al., 1992).

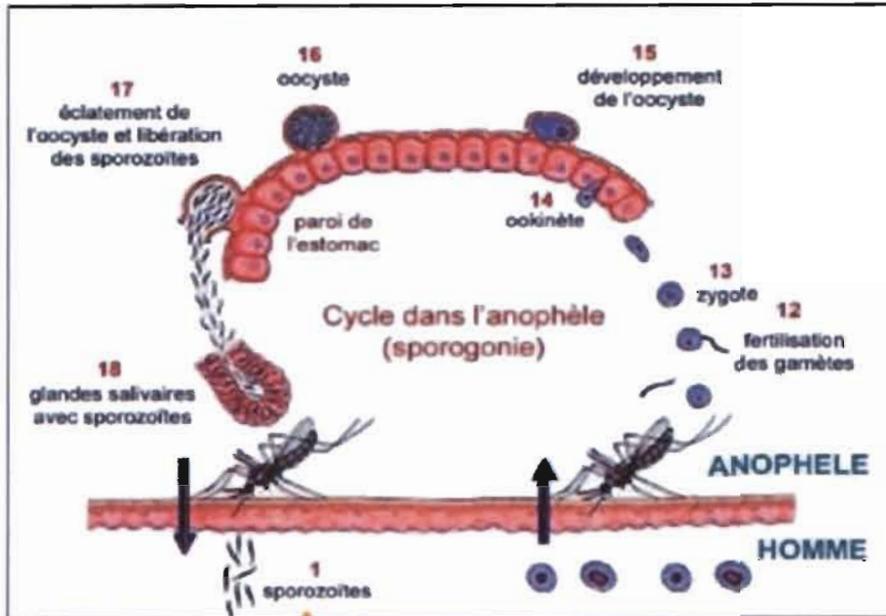


Figure 1 : Développement sporogonique (Source: [http : // ebischoff. free. fr / Palu2. html](http://ebischoff.free.fr/Palu2.html)).

2.2. Définition de la capacité et de la compétence vectorielle

2.2.1. Compétence vectorielle

La compétence vectorielle d'*An. gambiae* est son aptitude à supporter le développement et à assurer la transmission de *P. falciparum*. Le développement sporogonique, partie du cycle de vie du parasite se déroulant dans le moustique, est constitué de plusieurs étapes critiques. En effet il y a une réduction massive du nombre de parasites au cours du développement sporogonique. Les anophèles compétents pour *Plasmodium* permettent le bon déroulement de chaque stade de développement de ce parasite :

- la fusion de gamètes;
- la formation des oocystes;
- l'invasion des glandes salivaires;
- la transmission des sporozoïtes.

La compétence vectorielle est une estimation combinée du potentiel infectieux du parasite et de la susceptibilité des vecteurs. Il englobe donc deux mécanismes de résistance : un utilisé par l'hôte pour lutter contre l'infection et l'autre par les parasites pour surmonter les défenses de l'hôte. Le degré de compétence vectorielle pour le paludisme varie

considérablement entre les différentes espèces de moustiques, et même entre les individus d'une même espèce ou d'une même souche. La compétence vectorielle peut être mesurée en laboratoire en utilisant un certain nombre d'essais expérimentaux d'alimentation. Les moustiques peuvent être exposés à un repas de sang sur un hôte vertébré infecté de parasites de gamétocytémie donné ou à travers une membrane contenant soit des parasites cultivés soit du sang provenant de patients infectés naturellement. Chacune de ces approches mesure les traits liés à une infection, qui caractérisent le succès ou l'échec de l'infection et par conséquent, la compétence vectorielle.

Ces traits sont :

- la prévalence du parasite.

Il s'agit de la proportion de moustiques vecteurs du paludisme exposés au parasite et abritant au moins un oocyste dans leur estomac (prévalence des oocystes) ou un sporozoïte dans leur glande salivaire (prévalence de sporozoïtes). Une faible prévalence est la preuve d'une élévation de l'immunité augmentant la résistance à la mise en place du parasite dans les moustiques et / ou d'un faible potentiel infectieux du parasite.

- l'intensité parasitaire.

C'est le nombre d'oocystes dans l'estomac, ou le nombre de sporozoïtes dans les glandes salivaires, des moustiques infectés. Un faible nombre d'oocystes par estomac serait dû soit à des facteurs inhibant le développement sporogonique soit à l'incapacité du parasite à se développer.

2.2.2. La capacité vectorielle

La capacité vectorielle d'*An. gambiae* est son aptitude à transmettre le *Plasmodium* en un lieu donné à une période donnée. Elle dépend en général de :

- la longévité du vecteur dans cet environnement;
- la densité de la population vectorielle;
- la préférence trophique;
- l'efficacité de la transmission.

La capacité vectorielle peut se calculer en estimant le nombre d'inoculations attendu par jour à partir d'un cas humain infecté en contact avec une population anophélienne. C'est un paramètre qui permet d'évaluer la transmission homme/anophèle et d'estimer l'impact d'une action de lutte anti-vectorielle. Afin d'améliorer la compréhension et le contrôle des maladies vectorielles, un modèle mathématique a été développé par Garrett-Jones (1964) pour calculer la capacité vectorielle.

$$CV = ma^2p^n / -lnp$$

CV = capacité vectorielle

a = proportion de moustique qui s'alimente sur l'homme,

p² = âge épidémiologique dangereux,

ma = agressivité,

p = taux quotidien de survie,

n = durée du cycle sporogonique,

1/-lnp = espérance de vie,

pⁿ/-lnp = t l'espérance de vie infectante.

L'espérance de vie infectante est un paramètre permettant de prévoir, dans une population d'anophèle donnée, la proportion d'individus qui, après un repas de sang infectant, vivra suffisamment longtemps pour transmettre le parasite. Cet indice est le plus important paramètre de la transmission du paludisme, c'est pourquoi sa diminution est l'objectif visé par les campagnes de lutte anti-vectorielle.

3. Outils et méthodes disponibles pour la lutte contre les anophèles

La lutte anti-larvaire, la lutte contre les adultes, la protection individuelle et / ou collective sont les trois types de méthodes dont on dispose actuellement pour lutter contre les vecteurs du paludisme (Mouchet et al., 1991b).

3.1. Lutte contre les adultes

Cette stratégie de lutte s'appuie principalement sur deux outils :

➤ les pulvérisations intra-domiciliaires à l'aide de pyréthrinés comme le DDT (Mouchet et al., 1991a). Ils constituaient dans les années 50 l'essentiel des mesures de prévention dans les zones d'endémie palustre (Mouchet et al., 1991b). À cause de son accumulation dans la chaîne alimentaire, le DDT fut interdit dans les années 70 (Mabaso et al., 2004). Désormais la pulvérisation intra-domiciliaire utilise les organophosphorés et les pyréthrinés bien que l'utilisation du DDT soit encore tolérée par l'OMS en traitement domiciliaire dans certains contextes (Mouchet et al., 1997).

➤ les moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII) apparues au Burkina Faso dans les années 80 (Carnevale et al., 1991). Le concept de cet outil est de réduire au maximum le contact homme-vecteur en repoussant ou en tuant les moustiques qui tentent de piquer l'homme. Cependant d'énormes problèmes ont rendu difficile la vulgarisation de ces MII, parmi lesquels nous avons la ré-imprégnation, le coût qui n'est pas très souvent à la portée des ménages et la distance à parcourir pour se rendre dans les rares centres d'imprégnation mis en

place (Lines, 1996). Afin de pallier à ces problèmes, les moustiquaires imprégnées insecticides (MII) ou Lasting Impregnated Net (LINs) ont vu le jour. Au cours des dix dernières années, plus d'un million de vies ont été épargnées grâce à la lutte antipaludique élargie, en particulier grâce à l'utilisation des MII et des Pulvérisations Intradomiciliaires (PID). En Afrique, le taux de mortalité imputable au paludisme a été réduit de 33 % selon les estimations. Pour préserver ces avancées, des interventions anti-vectorielles essentielles (MII et PID) doivent être pérennisées puis intensifiées (OMS, 2013). Néanmoins, l'émergence dans certaines zones de vecteurs résistant aux insecticides, l'acceptabilité et l'utilisation effective de ces MII, surtout en milieu rural, limitent leurs efficacités (N'Guessan et al., 2007, Tchinda et al., 2012, OMS, 2013). Face à cette situation l'OMS recommande une gestion intégrée de la lutte anti-vectorielle. Dans ce contexte, le programme de gestion des gîtes larvaires est recommandé en tant que mesure supplémentaire pour la lutte anti-vectorielle contre le paludisme (OMS, 2013).

3.2. La gestion des gîtes larvaires

Elle fait référence à la gestion ciblée des zones de reproduction des moustiques avec pour objectif de réduire le nombre de larves et de nymphes de moustiques et donc d'adultes.

3.2.1. Aménagement de l'environnement

La modification de l'environnement par le drainage des eaux, l'assèchement des marais, pourrait réduire les populations d'anophèles qui ont besoin de points d'eau pour se reproduire. À ces mesures d'aménagement il faut ajouter certaines mesures d'hygiène telles que l'élimination des récipients péri-domestiques et le nettoyage des réserves d'eau domestiques (Golvan, 1983).

3.2.2. Les larvicides chimiques

Le Chlorpyrifos, le Pirimiphos méthyl et le Fenthion sont des larvicides chimiques qui peuvent être utilisés pour lutter contre les larves de moustique notamment dans les eaux polluées, mais ils sont toxiques pour la faune non cible. Ce sont tous des organophosphorés.

Le Téméphos (Abate®) en granules est le seul larvicide chimique non-toxique pour la faune non cible, utilisé pour traiter les gîtes larvaires d'anophèles. L'Abate® est un composé organophosphoré qui a donné d'excellents résultats dans la lutte contre les formes pré-imaginales de divers diptères hématophages (Quelennec, 1970).

3.2.3. La lutte biologique contre les larves

La lutte biologique consiste à utiliser des agents qui sont toxiques, infectieux ou des prédateurs pour les insectes nuisibles. Depuis longtemps, les poissons larvivores tels que les genres *Gambusia*, *Lebistes*, *Tilapia* sont utilisés pour lutter contre les larves d'anophèles (Fletcher et al., 1992). Mais, leur emploi n'est efficace que si ces poissons peuvent vivre dans les mêmes gîtes que les moustiques (Mouchet et al., 1991b). Des succès ont cependant été enregistrés dans des puits de Djibouti sur les larves d'*An. arabiensis* (Louis et al., 1988).

Les bactéries entomopathogènes les plus utilisées pour lutter contre les anophèles sont *Bacillus thuringiensis* set *Bacillus sphaericus* (Mouchet et al., 1991b). L'effet entomopathogène de *B. thuringiensis* sub sp. *israelensis* est basé sur des protéines toxiques hautement spécifiques (Cry4Aa, Cry4Ba, Cry10Aa, Cry11Aa, Cyt1Aa, et Cyt2Ba) qui sont produites au cours de la formation de spores et déposées à l'intérieur du corps parasporal (Fernandez-Luna et al., 2010). Les cristaux sont produits de manière concomitante à la sporulation des bactéries qui est induite par des conditions environnementales ne permettant plus à ces dernières de survivre. Lorsqu'il est ingéré par la larve, le cristal se dissout dans le système digestif alcalin où des enzymes spécifiques activent les toxines bactériennes (appelées endotoxines-delta) qui perforent dès lors l'épithélium du tube digestif, provoquant ainsi la mort de la larve (Mouchet et al., 1991a). Une dose de l'ordre de 1.106 spores par millilitre d'eau tue 100 larves d'*An. stephensi* en une centaine de minutes (de Barjac, 1978). La formulation naturelle des cristaux de *B. thuringiensis*, a une rémanence de moins de 24 h et des traitements hebdomadaires seraient nécessaires en zone tropicale humide. Le coût et les problèmes de logistique du traitement excluent donc l'utilisation de cette formulation (Mouchet et al., 1991b).

Les produits commerciaux à base de *Bti* d'une rémanence de 7 à 10 jours contiennent de la toxine sous forme de cristaux, des spores de la bactérie et divers ingrédients dits inertes ne participant pas à l'action pesticide en tant que telle. Les produits commerciaux se retrouvent généralement sous quatre formes : poudre, granules, briquettes et liquide. Ils sont appliqués directement en milieu aquatique par voie terrestre (exemple à partir d'un réservoir portatif sur le dos des applicateurs) ou aérienne (exemple des granules largués par un aéronef) selon le type de milieu, sa superficie et son accessibilité. Les biopesticides à base de *Bti* sont utilisées dans le monde entier pour lutter contre les insectes nuisibles. Son pouvoir larvicide a été démontré sur diverses espèces : *Aedes aegypti*, *An. gambiae* (de Barjac et al., 1979), *An. stephensi*, (de Barjac, 1978), *Simulium damnosum s.l.* (Guillet et al., 1979).

4. Présentation de notre étude

D'une part, la fenêtre d'efficacité du *Bti* est courte (7 à 10 jours) à cause de sa dégradation. Une application fréquente en fait une méthode de lutte anti-vectorielle couteuse, et difficilement applicable à une concentration optimale continue permettant d'obtenir 100% de mortalité larvaire. D'autre part, les gîtes larvaires ont également des conditions nutritionnelles variées pour les larves. Or, il a été montré que des stress subits à l'état larvaire peuvent avoir une répercussion sur la physiologie de l'adulte et plus particulièrement sur sa capacité à combattre un pathogène (Grimstad et al., 1991, Takken et al., 2013). Ainsi, de faibles concentrations de larvicides ainsi que des gîtes larvaires de qualité nutritionnelle variables pourraient avoir une influence sur la capacité et la compétence vectorielle des adultes en émergeant. C'est pourquoi notre étude se propose d'examiner l'effet d'un larvicide à des concentrations sub-létale et d'un stress nutritionnel sur la compétence et la capacité vectorielle d'*An. gambiae*, un des vecteurs principaux du paludisme au Burkina Faso, pour le parasite du paludisme *P. falciparum*.

II. MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué des œufs issus d'une souche d'*An. gambiae*, maintenue en élevage à l'insectarium de l'IRSS de Bobo-Dioulasso depuis plusieurs générations.

1.2. Les matériels d'élevage

Les matériels d'élevage se composaient de:

- bacs de 2 litres;
- bacs de 6 litres;
- pipettes;
- Tetramin[®], aliment pour les alevins, riche en protéines et en substances minérales.
- les barriques en plastique;
- la toxine de *Bacillus thuringiensis* (VectoBac[®]);
- des aspirateurs à bouche;

➤ Etagères : construites en bois avec des supports en fer. Elles servent de support aux bacs en plastique et aux cages destinées à l'élevage des moustiques. Les 4 supports de l'étagère sont chacun immergé dans un récipient en plastique contenant de l'eau savonneuse, empêchant l'accès aux fourmis prédatrices de moustiques.

➤ Cages : de forme cubique de dimensions 30cm*30cm*30cm et de 20cm*20cm*20cm. Ces cages sont faites en fer et recouvertes de moustiquaire non imprégnée. L'une des faces de la cage possède une ouverture pourvue d'un manchon par lequel on peut effectuer diverses manipulations. Les différentes cages sont étiquetées.

➤ L'eau d'élevage: l'eau distillée. Elle est transportée à l'insectarium dans des bidons de 20 litres.

1.3. Matériel de dissection

Le matériel de dissection se composait de:

- mercurochrome 2%;
- microscopes;
- loupe binoculaire à chambre claire munie d'un oculaire micrométrique;
- Pinces;
- fiches de dissection.

2. Méthodes

2.1. Elevage des larves

2.1.1. Des œufs

Les œufs ont été mis en eau 48 heures dans des bacs en plastique contenant 1 litre d'eau distillée.

2.1.2. Méthodologie d'alimentation

L'insectarium se compose d'une pièce pour l'élevage des différents stades pré-imaginaux et l'élevage des anophèles adultes, et de deux petites pièces annexes dont une pour le repas sanguin et l'autre pour la dissection. Les larves sont élevées dans des conditions contrôlées. Un climatiseur maintient la température à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Un hygromètre permet de mesurer l'humidité relative, elle est maintenue à $80 \pm 10\%$ à l'aide d'humidificateurs. Pour la photopériode, un éclairage au néon fonctionne de 6h00 à 18h 00.

Les larves de premier stade ont été placées dans des bacs blancs en plastique aux dimensions de 300*205*65 mm contenant 1 litre d'eau de source et 300 larves / bac. Les larves sont nourries avec du Tetramin[®]. Deux lots d'élevage ont été réalisés selon la quantité d'aliments reçue par les larves (tableau 1). Les larves ont été nourries quotidiennement suivant le nombre, le stade larvaire et le régime alimentaire du lot. Les larves sont pipetées et dénombrées chaque deux jours et l'eau d'élevage est renouvelée. Ceci permet de limiter la prolifération de bactéries toxiques se développant sur la nourriture pouvant s'accumuler au fond des bacs et de s'assurer que la quantité de nourritures disponible au cours du développement soit fixe. Pour les quatre réplicats de notre étude nous avons fait 124 bacs dont 53 bacs en alimentation élevés et 91 bacs en alimentation faible. Nous avons produit plus de bacs en alimentation faible afin d'obtenir un nombre suffisant d'adultes, ces derniers ayant une mortalité plus élevée.

Tableau I: Régime alimentaire des groupes en fonction du stade larvaire

Stades larvaire	Quantité d'aliment (mg/larve)	
	Faible	Elevé
L1	0,025	0,075
L2	0,05	0,1
L3	0,075	0,2
L4	0,1	0,3

2.1.3. Méthodologie des bio-essais

Nous avons testé les différentes concentrations de *B. thuringiensis* sur des larves d'*An. gambiae* de troisième stade afin de déterminer les concentrations létales à 50% (CL50) et à 95% (CL95) (Satyanarayan Tiwari, 2011). Nous avons testé huit concentrations différentes : 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 et 0,8 mg/l

Pour chaque grille d'alimentation et chaque concentration, nous avons utilisé 50 larves. Parmi ces 50 larves, 25 ont été mises dans 150 ml d'eau contenant du larvicide et les 25 autres considérées comme témoins dans 150 ml d'eau uniquement. Quatre essais successifs ont été effectués pour chaque concentration de chaque groupe. La mortalité larvaire a été déterminée en comptant le nombre de larves d'*An. gambiae* qui reste après 24 heures d'exposition au *Bti* WDG (VectoBac® 3 000 UIT / mg). Les larves mourantes ont été comptées et ajoutées aux larves mortes dans le calcul du pourcentage de mortalité.

2.1.4. Méthode de stress par le larvicide

Pour une efficacité optimum le fournisseur préconise l'application de VectoBac® WDG 3 000 UIT / mg sur les jeunes stades larvaires (I, II, III). Le larvicide a été alors ajouté dans l'eau d'élevage des larves au troisième stade larvaire. Trente-quatre (34) bacs d'alimentation élevée et quarante-six (46) bacs d'alimentation faible ont reçu 1 litre par bac de solution *Bti* (VectoBac®) de concentration 0,1 mg/l. Après la constitution des quatre groupes de traitement, nous avons continué d'alimenter les larves selon leur grille alimentaire sans changement de l'eau et avec un comptage chaque deux jours.

2.2. Elevage des nymphes

Nous avons prélevé quotidiennement les nymphes à l'aide d'une pipette aspirante. Les nymphes ainsi prélevées ont été placées dans des gobelets en plastique à moitié remplis d'eau provenant de leur bac d'origine. Ce gobelet est placé dans un gobelet en carton plus grand recouvert d'une moustiquaire. Une ouverture dans la moustiquaire fermée avec un morceau de coton permet l'accès avec un aspirateur à bouche afin d'aspirer les adultes émergés. Les nymphes ont été triées selon leur bac d'origine.

2.3. Elevage des anophèles adultes

Les adultes qui ont émergé des gobelets contenant les nymphes ont été transférées dans des cages après détermination de leur sexe. Chaque moustique est transféré dans une cage correspondant à son traitement.

Les quatre traitements sont :

- alimentation élevée;
- alimentation élevée plus larvicide;
- alimentation faible;
- alimentation faible plus larvicide.

Les moustiques ont été nourris avec de l'eau et une solution de glucose 5%.

2.4. Les infections expérimentales

2.4.1. Recherche du porteur de gamétocyte

Des enfants bénévoles provenant des villages environnants de Bobo-Dioulasso sont testés pour la présence de *P. falciparum* (après que les parents aient signé le formulaire de consentement éclairé). Pour cela des gouttes épaisses sont effectuées par piqûre au doigt, pour 100 enfants âgés entre 5 et 11 ans. De retour au laboratoire, les gouttes épaisses sont colorées au Giemsa 10% et examinées au microscope par des techniciens qualifiés qui détectent la présence des parasites et quantifient les stades asexués et sexués de *P. falciparum*. Deux ou trois porteurs de gamétocytes sont sélectionnés en fonction de la densité des gamétocytes (gamétocytémie > 5 gamétocytes / 1000 globules blancs). Pour les enfants positifs aux gamétocytes et/ou trophozoïtes, le parent ou le tuteur sera invité à amener l'enfant au CSPPS pour le traiter selon les normes OMS par l'infirmier. Parmi les enfants porteurs de gamétocytes, deux volontaires seront choisis et conduits au laboratoire le jour de l'infection pour être prélevés puis traités. Pour les 4 réplicats de notre étude, 4 infections expérimentales avec le sang de 6 porteurs de gamétocytes ont été effectuées.

2.4.2. Infection des moustiques

Les femelles âgées de 5 ou 6 jours, ont été transférées dans des gobelets recouverts de moustiquaires non imprégnées. 60 moustiques femelles ont été transférés par gobelet. Elles sont affamées 24h avant le repas de sang durant lesquelles elles n'ont plus accès qu'à de l'eau.

Un système de cellules de gorgement est maintenu à 37°C par un bain-marie. Cinq cents microlitres de sang sont introduits à l'aide d'une micropipette dans chaque cellule de gorgement recouverte d'une membrane de Parafilm à travers laquelle les femelles se nourrissent. Les moustiques destinés au contrôle de la survie ont été gorgés sur du sang dont les gamétocytes ont été inactivés dans un thermomixer à 43°C pendant 15 min (Sangare et al., 2013). Les repas de sang infectant durent 60 min puis les moustiques gorgés sont triés et placés dans une nouvelle cage et nourris avec du glucose 5 % et de l'eau.

2.5. Méthodologie de mesure de la longévité

Pour chaque traitement, une cage contenant des moustiques ayant reçu un repas sanguin infectant et une cage contenant des moustiques ayant reçu un repas sanguin non infecté ont été réalisées. Chacune de ces cages contenait en moyenne 15 moustiques. Ces moustiques sont nourris uniquement avec de l'eau. Les mortalités ont été relevées 2 fois par jour, entre 8h30 et 9h30 et entre 17h30 et 18h30. Nous avons mesuré la longévité des moustiques sur 2 réplicats et 3 donneurs de sang différents. Le tableau 2 résume l'effectif des moustiques dont la mortalité a pu être relevée.

Tableau II: Nombre de moustique dont la mortalité a été relevée.

Traitements	Nature du sang	Nombre de morts
Alimentation élevée	Infecté	87
	Inactivé	80
Alimentation faible	Infecté	92
	Inactivé	76
Alimentation élevée +larvicide	Infecté	84
	Inactivé	78
Alimentation faible +larvicide	Infecté	84
	inactivé	67

2.6. La dissection des moustiques

Sept jours après le repas sanguin, les moustiques survivants sont disséqués pour extraire les estomacs qui sont colorés au mercurochrome 2% puis examinés pour la recherche et la numération des oocystes et des microsporidies au microscope optique. 270 moustiques issus des larves ayant reçu une alimentation élevée; 212 moustiques issus des larves faiblement alimentées; 226 moustiques issus des larves ayant été faiblement alimentées puis soumises au larvicide et 242 moustiques issus de larves ayant subi une alimentation élevée et soumises au larvicide ont été disséquées au cours de l'étude. Pour mesurer la taille des moustiques l'une des ailes de chaque moustique disséqué est sectionnée au niveau de l'alula à l'aide d'une pince et collée sur une feuille blanche (Nasci, 1990). Une photographié est réalisée à l'aide de logiciels LAZER afin de mesurer la taille de l'aile à l'aide du logiciel ImageJ.

2.7. Analyses statistiques

L'analyse des données a été faite avec le logiciel R version 3.1.0 (R Core Team, 2013). Nous avons utilisé des modèles linéaires généralisés mixtes (GLMMs) qui permettent de prendre en compte des effets fixes et leurs interactions ainsi que des effets aléatoires (Bolker et al., 2009). Les différents réplicats, pontes et porteurs ont été mis en effets aléatoires, et les effets du larvicide, de l'alimentation des larves, de la gamétocytémie et des microsporidies ont été codés en effet fixes. La taille des adultes a été comparée à l'aide d'un GLMM suivant une loi normale, la prévalence de l'infection suivant une loi binomiale, et l'intensité en oocystes suivant une distribution de quasi-poisson. Un GLM a été utilisé pour déterminer la CL50 et la CL95. Nous avons utilisé des modèles de Cox pour comparer l'effet des variables fixes sur la survie et le temps de développement des moustiques. La significativité de chaque effet fixe et des interactions a été estimée sur la base de simplifications de modèles suivies d'analyses de déviance (« Likelihood Ratio Test », LRT) (Crawley, 2013). Les effets ont été considérés comme significatifs à $p < 0,05$.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Estimation de la CL50 et de la CL95 du bio-essai

Les concentrations létales 50% et 95% de VectoBac[®] WG préconisé en laboratoire chez les larves d'*Anopheles* sont respectivement comprises entre 0,021 à 0,143 mg/l et 0,21 à 0,491 mg/l, (OMS, 2004). Les CL que nous avons trouvées sont dans la gamme de celle de l'OMS seulement chez les alimentations faibles. Chez les alimentations élevées les CL étaient supérieures à celles préconisées par l'OMS. Une corrélation positive entre les concentrations létales de *Bti* et la quantité d'aliments reçue par les larves a été observée dans notre étude (tableau 3).

Tableau III : Résultat de l'analyse statistique de la CL50 et de CL95 de *Bti* en fonction de la quantité de d'aliment.

Quantité d'aliment fournie aux larves	CL50 (mg/l)	CL95 (mg/l)
Elevé	0,61	2,51
Faible	0,14	0,36

3.1.2. Temps de développement aquatique

Les moustiques mâles se développèrent plus rapidement ($12,99 \pm 0,011$ jours) que les femelles ($13,33 \pm 0,011$ jours ($|Z|= 8,09$; $p < 0,0001$). De même, les larves en alimentation élevée se développèrent plus rapidement ($11,82 \pm 0,016$ jours) que les larves en alimentation faible ($14,42 \pm 0,025$ jours) ($|Z|= 25,01$; $p < 0,001$). Une interaction entre l'alimentation et le larvicide a été observée ($X_1^2 = 5,16$; $p < 0,05$). En alimentation élevée, les moustiques émergèrent plus rapidement en absence qu'en présence de larvicide ($11,74 \pm 0,023$ et $11,89 \pm 0,023$ jours, respectivement) alors qu'en alimentation faible les moustiques émergèrent plus rapidement en présence qu'en absence de larvicide ($14,39 \pm 0,036$ et $14,46 \pm 0,036$ jours, respectivement). Une interaction entre le sexe et l'alimentation a été observée ($X_1^2 = 86,52$; $p < 0,0001$). En effet, la différence entre le temps de développement des mâles et celui des femelles fut plus élevé en alimentation élevée ($0,29 \pm 0,0004$ jours) qu'en alimentation faible ($0,26 \pm 0,003$ jours).

3.1.3. La longévité des femelles

Le larvicide seul n'a pas eu d'effet significatif sur la survie des adultes ($|Z|= 1,01$; $p=0,31$). Les femelles issues des larves faiblement alimentées ont survécu significativement plus longtemps (longévité moyenne : $5,31 \pm 0,13$ jours) que celles des régimes alimentaires élevés (longévité moyenne : $5,22 \pm 0,12$ jours; $|Z|=5,45$; $p < 0,0001$). Les moustiques qui ont reçu un repas sanguin infectant ont également survécu significativement plus longtemps (longévité moyenne : $5,32 \pm 0,12$ jours) que les moustiques qui ont reçu du sang non-infectant (longévité moyenne : $5,19 \pm 0,12$ jours; $|Z|=2,60$; $p < 0,01$). Une interaction entre l'alimentation et le larvicide sur la longévité a été observée ($X_1^2= 6,4424$; $p < 0,05$) (Figure 2). En effet, la présence de larvicide diminua la survie des moustiques issus des larves faiblement alimentées alors qu'elle n'affecta pas ou très peu celle des moustiques issus des alimentations élevées. Une interaction significative a été observée entre la gamétoctémie et l'exposition au parasite sur la survie des moustiques ($X_1^2= 6,2798$; $p < 0,05$) (Figure 3). En effet un repas sanguin à faible gamétoctémie (12) augmenta la survie des moustiques par rapport à ceux qui se sont gorgés sur du sang à gamétoctes inactivés du même porteur. Cependant les repas sanguins infectants aux fortes gamétoctémies (21 et 30) diminuèrent la survie des moustiques par rapport à ceux qui s'étaient gorgés sur le même sang à gamétoctes inactivés. Enfin, à faible gamétoctémie (12) les alimentations faibles survivaient plus que les alimentations élevées, mais à forte gamétoctémie (21 et 30) cette tendance s'inversa ($X_1^2= 21,82$; $p < 0,0001$) (Figure 4).

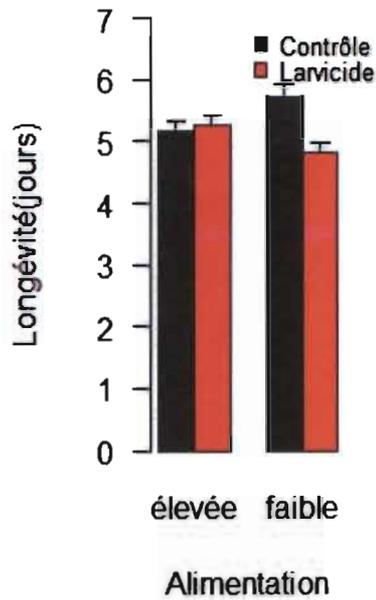


Figure 2: Effet de l'alimentation et de l'exposition au larvicide sur la longévité moyenne des femelles. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

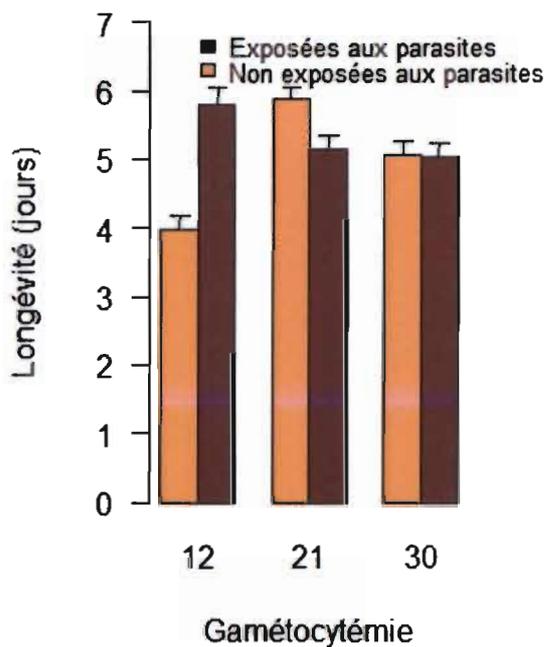


Figure 3: Effet de la gamétocytémie et de l'exposition au parasite sur la longévité moyenne des femelles. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

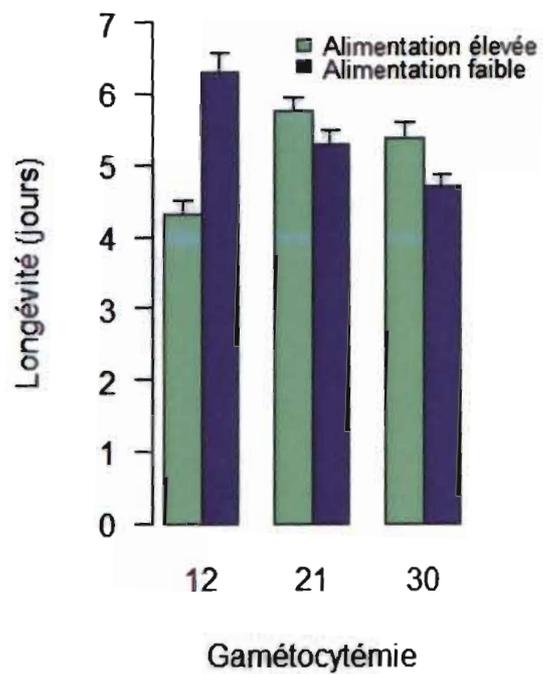


Figure 4 : Effet de la gamétocytémie et de l'alimentation sur la longévité moyenne des femelles. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

3.1.4. La longueur des ailes des moustiques.

La quantité d'aliments reçue au stade larvaire, l'exposition au larvicide et le sexe ont significativement influencés la taille des moustiques. Les moustiques ayant reçu une alimentation élevée étaient plus grands ($4,11 \pm 0,01$ mm) que ceux ayant reçu une alimentation faible ($3,61 \pm 0,01$ mm; $F= 2\,277,9$; $p<0,0001$). Les moustiques exposés au larvicide étaient significativement plus petits ($3,85 \pm 0,01$ mm) que les contrôles ($3,87 \pm 0,01$ mm; $F= 4,381$; $p<0,05$). Les moustiques mâles ($3,76 \pm 0,01$ mm) étaient significativement plus petits que les femelles ($3,95 \pm 0,01$ mm; $F= 332,11$; $p<0,0001$). Cette différence de taille a été accentuée par la présence de larvicide ($F= 6,86$; $p<0,01$). La différence de taille entre les mâles et les femelles était de $0,20 \pm 0,02$ mm en présence de larvicide et de $0,19 \pm 0,03$ mm en l'absence de larvicide. Enfin, le stress combiné du larvicide et de la faible alimentation diminua significativement la taille des moustiques alors que l'alimentation élevée augmenta la taille des moustiques dont les larves ont été soumises au larvicide ($F= 8,88$; $p<0,05$) (Figure 5).

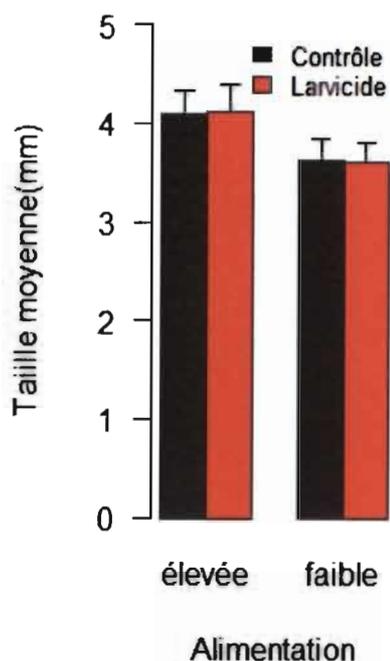


Figure 5 : Effet de l'alimentation larvaire et de l'exposition au larvicide sur la taille moyenne des moustiques. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

3.1.5. Prévalence de l'infection

La prévalence en oocystes n'a été affecté ni par la taille des moustiques ($X_1^2=0,98$; $p=0,32$), ni par la gamétocytemie ($X_1^2= 0,15$; $p= 0,70$). Les microsporidies étaient présentes dans une partie de nos moustiques. La présence mais pas l'intensité en microsporidies a diminué significativement la prévalence de l'infection des femelles ($X_1^2=15,19$, $p<0,001$ et $X_1^2=0,052$, $p=0,82$, respectivement) (Figure 6). La prévalence en oocystes était plus élevée chez les moustiques issus des larves faiblement alimentées ($0,62 \pm 0,05$) que chez les moustiques issus des larves dont l'alimentation était élevée ($0,56 \pm 0,04$; $X_1^2=9,02$, $p<0,05$). La présence de larvicide a significativement augmenté la prévalence en oocystes ($0,62 \pm 0,04$) comparé à la prévalence en absence de larvicide ($0,56 \pm 0,04$; $X_1^2= 3,96$, $p<0,05$). La prévalence de l'infection était significativement plus élevée chez les moustiques issus des larves doublement stressées par la faible alimentation et l'exposition au larvicide ($X_1^2= 6,44$, $p<0,05$) (Figure 7).

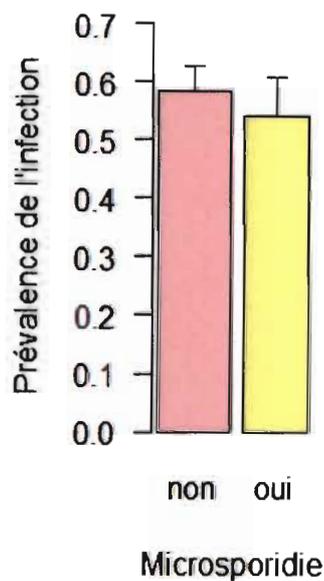


Figure 6: Effet de la présence de microsporidie sur la prévalence de l'infection en oocyste. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance.

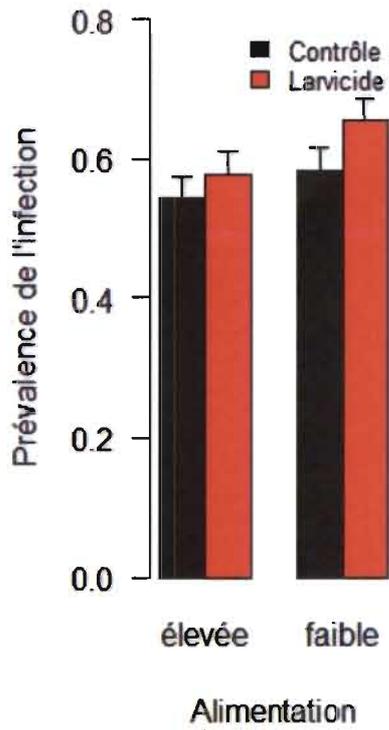


Figure 7 : Effet de l'alimentation larvaire et de l'exposition au larvicide sur la prévalence de l'infection en oocystes. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance.

3.1.6. Intensité de l'infection

La gamétoctémie, la présence de larvicide et le régime alimentaire des larves n'ont pas eu d'effet significatif sur l'intensité en oocystes des moustiques ($|Z|=1,63$, $p=0,10$; $|Z|=1,89$, $p=0,058$; $|Z|=0,82$, $p=0,41$ respectivement). L'effet de l'alimentation sur l'intensité changea en fonction de la gamétoctémie (interaction régime alimentaire et gamétoctémie : $X_1^2=5,09$, $p<0,05$) (Figure 8). De même, l'effet du larvicide sur l'intensité changea suivant la gamétoctémie (interaction régime alimentaire et gamétoctémie : $X_1^2=6,73$, $p<0,01$) (Figure 9). A faible gamétoctémie, l'intensité en oocystes chez les femelles non exposées au larvicide était plus faible que chez les femelles exposées au larvicide, et cette relation s'inversa à plus forte gamétoctémie (Figure 8).

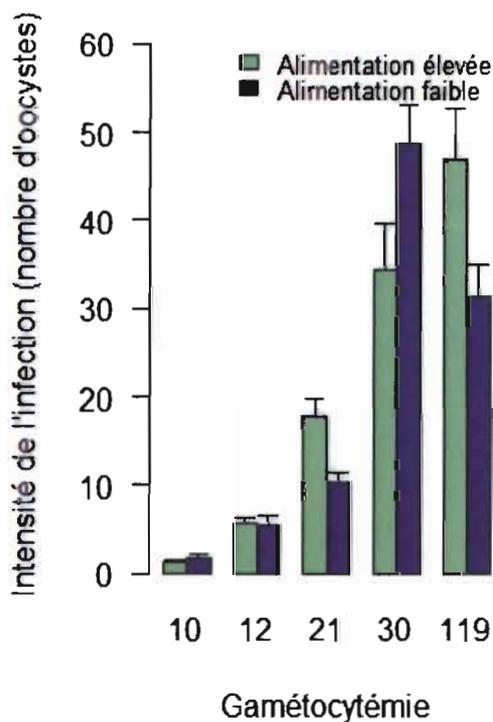


Figure 8 : Effet de la gamétoctémie et de l'alimentation sur l'intensité des oocystes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

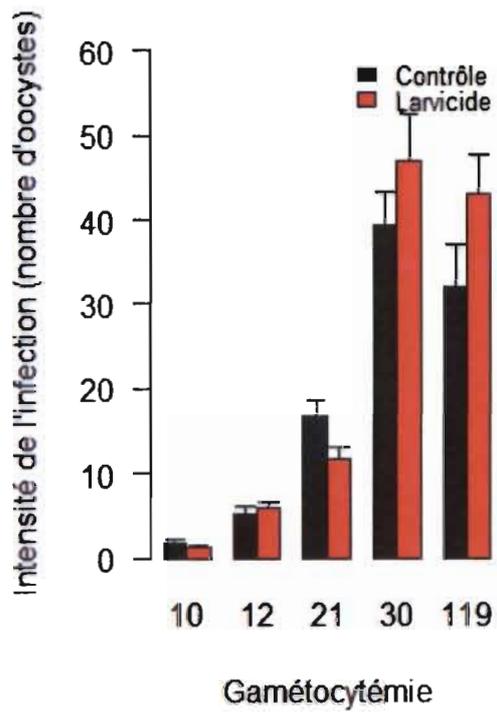


Figure9 : Effet de la gamétocytémie et de l'exposition au larvicide sur l'intensité en oocystes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

3.2. Discussion

La corrélation positive obtenue en bio-essai entre les CL50 et CL95 de *Bti* et les quantités d'alimentations que reçoivent les larves montre que les larves en alimentation faible sont plus sensibles au *Bti* que les larves qui reçoivent une alimentation élevée. Ainsi, le stress alimentaire semble augmenter la susceptibilité des larves aux toxines de *Bti*. Il a été montré par Gilles et al. (2011) qu'une alimentation faible est préjudiciable à la survie des larves de moustiques. Les CL chez les alimentations élevées étaient supérieures aux doses préconisées par l'OMS (2004). Cependant chez les alimentations faibles ces doses concordent avec celles que l'OMS (2004) préconise. Les doses d'application du VectoBac® WG devraient tenir compte de la disponibilité d'aliment pour les larves dans les gîtes larvaires. Les concentrations létales 50% que nous avons observées chez les larves ayant reçu une alimentation faible et une alimentation élevée (0,14 mg/l et 0,61 mg/l respectivement) sont élevées comparativement à d'autres études menées en Gambie par Majambere (2007) où la CL50 était de 0,039 mg/l et au Ghana par Nartery et al (2013) où la CL50 était de 0,026 mg/l. Ces concentrations létales élevées pourraient s'expliquer soit par la différence des espèces, soit par le milieu d'étude, soit par la quantité de particules qu'ingèrent les larves d'*An. gambiae*. Les espèces de moustiques et leurs stratégies d'alimentation respectives, le taux d'ingestion, l'âge et la concurrence pour la consommation alimentaire des larves sont des facteurs qui influencent l'efficacité du *Bti* (Lacey, 2007). Il semble donc que l'utilisation de VectoBac® WDG en lutte anti-vectorielle doit tenir compte des espèces et des milieux visés afin d'adapter le coût et la quantité de larvicide utilisé.

La corrélation négative entre la quantité d'aliments qu'ont reçus les larves et le temps de développement montre que la quantité de nourritures est un facteur environnemental important pour le développement des moustiques. Comme de nombreuses autres études sur les larves d'*Anopheles* (Pfaehler et al., 2006, Grech et al., 2007) ou encore de *Culex pipiens quinquefasciatus* (Agnew et al., 2000) nous avons montré que les larves ayant reçu une alimentation élevée ont émergé rapidement et ont donné des adultes de grandes tailles. Dans notre étude, les femelles étaient plus grandes que les mâles ce qui est lié au temps de développement plus court de ces derniers. En effet, les mâles muent plus rapidement alors que les femelles prennent plus de temps pour grandir (Lehmann et al., 2006).

L'émergence tardive due au larvicide n'est observée que chez les larves soumises à une alimentation élevée. Les larves alimentées faiblement sont plus susceptibles aux toxines *Bti*, les plus résistantes émergent rapidement et donnent des moustiques plus petits que les larves alimentées faiblement sans larvicide. En se développant rapidement, les larves ont

l'avantage d'être exposées moins longtemps au *Bti* et de survivre, alors que les larves prenant plus de temps à muer, meurent par ingestion de plus de toxines. Le larvicide diminuerait la masse agressive ce qui entrainerait une baisse de la capacité vectorielle donc de la transmission du paludisme.

Le larvicide a des répercussions sur la survie lorsque les larves sont soumises à une alimentation faible. En effet, il diminue la survie donc la capacité vectorielle de ces moustiques. Le *Bti* même à dose sub-létale entrainerait une baisse de la transmission du paludisme lorsqu'il est utilisé dans les gîtes larvaires où les conditions alimentaires sont précaires. Cela peut être expliqué par la susceptibilité élevée aux effets du *Bti* des moustiques issus des larves faiblement alimentées.

La corrélation négative entre la survie des adultes et la quantité d'aliments reçue par les larves s'explique par la pression de sélection qui permet aux moustiques tolérant la faim d'émerger. Ainsi, ces moustiques ont survécu plus longtemps lorsqu'ils ont été affamés au stade adulte. Le stress alimentaire des larves augmenterait la capacité vectorielle donc la transmission du paludisme. Dans une étude menée au Kenya, Koenraadt et al (2006) avaient observé qu'un stress nutritionnel au stade larvaire augmentait la survie d'*An. gambiae*. Cependant, des résultats opposés ont été apportés par Lyimo et Koella (1992) chez *An. gambiae s.l.* et par Takken et al. (2013) chez *An. coluzzii*.

D'une manière générale, l'exposition au parasite augmente la survie d'*An. gambiae*. Or, plus une femelle vivra longtemps plus elle aura de chances de piquer et donc d'inoculer puis transmettre le parasite ce qui augmente donc la capacité vectorielle. Cependant, l'exposition à des doses infectantes élevées diminue la survie des moustiques et donc la capacité vectorielle. La faible gamétocytémie engendre une intensité d'oocystes faible ce qui potentiellement amène le moustique à réorienter ses ressources énergétiques vers la longévité augmentant ainsi la survie des moustiques comme rapporté par Vezilier et al. (2012). Cependant à forte gamétocytémie cette réorientation des ressources serait remplacée par une mobilisation de l'immunité préjudiciable à la survie des moustiques. Cette idée est soutenue par Ferguson et Read (2002) montrant, que la mobilisation de la réponse immunitaire du moustique suite à une infection parasitaire diminue sa survie et donc sa capacité vectorielle.

La proportion de moustiques infectés au cours du repas de sang était indépendante de la taille. Comme Lyimo et Koella (1992) nous avons montré que la taille d'*An. gambiae* n'influence pas sa compétence vectorielle. La faible alimentation de même que le larvicide ont augmenté la prévalence de l'infection. Autrement dit, un stress au stade larvaire qu'il soit dû au *Bti* ou à l'alimentation augmente la proportion des moustiques ayant développé au

moins un oocyste ou compétence vectorielle d'*An. gambiae*. En outre, la prévalence de l'infection était la plus élevée chez les moustiques issus de la situation doublement stressante de l'exposition au larvicide et à la faible alimentation. Cela peut être dû à une modification par le larvicide des facteurs inhibant la susceptibilité des moustiques aux parasites. Le larvicide peut avoir entraîné soit une faiblesse des barrières physiologiques comme la matrice péritrophique et l'épithélium stomacal, soit une baisse du système immunitaire augmentant alors la susceptibilité des moustiques aux parasites. Suwanchaichinda et Paskewitz (1998) ont observé chez les moustiques issus des larves faiblement alimentées une baisse de la mélanisation, une des réponses immunitaires du moustique, ce qui suggère qu'une diminution de la réponse immunitaire pourrait être à l'origine de l'augmentation de la prévalence en alimentation faible. Une application de dose de *Bti* inférieure à ce qu'exigent le milieu et les espèces vectrices pourrait donc augmenter la transmission du paludisme en augmentant la compétence vectorielle.

L'un des faits intéressants que cette étude montre est la baisse significative de la prévalence de l'infection due à l'infection de l'élevage par une souche sauvage de microsporidie. Les microsporidies diminuent donc la compétence vectorielle d'*An. gambiae*. Dans des systèmes artificiels Bargielowski et Koella (2009) puis Lorenz et Koella (2011) ont montré qu'un biopesticide composé de microsporidie du genre *Vavraiaculicis* diminuait la prévalence donc la compétence vectorielle de *P. berghei* chez *An. gambiae*. De plus Koella et al. (2009) ont rapporté une diminution de la survie donc de la capacité vectorielle d'*An. gambiae* infectées par *V. culicis*. Une valorisation de la souche sauvage impliquée dans la baisse de la compétence et éventuellement de la capacité vectorielle serait un moyen supplémentaire dans la lutte contre le paludisme.

Les moustiques dont les larves ont été soumises au larvicide ou à une faible alimentation avaient un nombre d'oocystes par estomac élevé lorsque la gamétocytémie était élevée. Il est connu que le rendement sporogonique est faible entre gamétocytes et oocystes (Vaughan et al., 1994, Gouagna et al., 1998). Le stress alimentaire et le larvicide au stade larvaire augmenteraient la vulnérabilité des moustiques aux doses infectantes élevées. La gamétocytémie élevée paralyserait les barrières physiques et les systèmes immunitaires des moustiques issus des larves stressées. Ainsi la forte densité gamétocytaire combinée à la faible alimentation des larves ou au larvicide semble augmenter la compétence vectorielle d'*An. gambiae*.

4. Conclusion et perspectives

4.1. Conclusion

Une dose de *Bti* qui ne tue pas les larves donne des *An. gambiae* plus compétent dans la transmission du paludisme. Cette augmentation de la compétence est accentuée par un stress alimentaire au stade larvaire. Ainsi, l'utilisation de larvicide dans la lutte anti-vectorielle pourrait conduire à une phase d'augmentation de la transmission du paludisme si les doses sont sub-létales ou lors de la diminution d'efficacité du produit. L'augmentation de la survie des adultes suite au stress alimentaire et à leur exposition à *P. falciparum* entraîne une hausse de la capacité vectorielle, donc de la transmission du paludisme par *An. gambiae*.

Les microsporidies diminuent la compétence vectorielle d'*An. gambiae* à *P. Falciparum* et donc la transmission du paludisme. Elles pourraient être utilisées dans la lutte vectorielle.

Notre étude montre qu'une méthode de lutte anti-vectorielle peut avoir de nombreux effets sur l'interaction entre le moustique et le parasite et qu'il est donc nécessaire de faire des investigations permettant de connaître ses répercussions sur la transmission du paludisme.

4.2. Perspectives

L'exposition des larves d'*An. gambiae* à des doses sub-létales de *Bti* augmente la prévalence de l'infection des moustiques qui en sont issus, reste à savoir quel est le mécanisme qui régit cette augmentation.

Pour que le moustique transmette le paludisme il faut que le cycle sporogonique aboutisse à la libération des sporozoïtes dans ses glandes salivaires. Ainsi, d'autres études devront s'intéresser à la corrélation entre la prévalence en oocystes et la présence des sporozoïtes dans les glandes salivaires des moustiques issus de larves soumises à des doses de *Bti* sub-létales.

Au laboratoire les microsporidies ont entraîné une baisse de la prévalence de l'infection à *P. berghei*. Nous venons de confirmer sur un système naturel une baisse de la prévalence de l'infection à *P. falciparum* chez *An. gambiae* suite à une contamination de l'élevage par une souche sauvage de microsporidie. Il faudra approfondir les connaissances sur l'interaction microsporidie-moustique et le blocage du développement de *P. falciparum*, ainsi qu'évaluer les dangers éventuels de ces microsporidies sur l'environnement afin de les utiliser comme moyen de lutte intégré contre le paludisme.

BIBLIOGRAPHIE

- AGNEW, P., HAUSSY, C. & MICHALAKIS, Y. (2000) Effects of density and larval competition on selected life history traits of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*, 37, 732-5.
- ASIDI, A., N'GUESSAN, R., AKOGBETO, M., CURTIS, C. & ROWLAND, M. (2012) Loss of household protection from use of insecticide-treated nets against pyrethroid-resistant mosquitoes, benin. *Emerg Infect Dis*, 18, 1101-6.
- BARGIELOWSKI, I. & KOELLA, J. C. (2009) A possible mechanism for the suppression of *Plasmodium berghei* development in the mosquito *Anopheles gambiae* by the microsporidian *Vavraia culicis*. *PLoS One*, 4, e4676.
- BEIER, J. C., BEIER, M. S., VAUGHAN, J. A., PUMPUNI, C. B., DAVIS, J. R. & NODEN, B. H. (1992) Sporozoite transmission by *Anopheles freeborni* and *Anopheles gambiae* experimentally infected with *Plasmodium falciparum*. *J Am Mosq Control Assoc*, 8, 404-8.
- BOLKER, B. M., BROOKS, M. E., CLARK, C. J., GEANGE, S. W., POULSEN, J. R., STEVENS, M. H. & WHITE, J. S. (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol*, 24, 127-35.
- BRENGUES, J., SUBRA, R., MOUCHET, J. & NELSON, G. S. (1968) Transmission of *Wuchereria bancrofti* Cobbold in West Africa. Preliminary study of a focus in the savanna of north Guinea. *Bull World Health Organ*, 38, 595-608.
- CARNEVALE, P., ROBERT, V., SNOW, R., CURTIS, C., RICHARD, A., BOUDIN, C., PAZART, L. H., HALNA, J. M. & MOUCHET, J. (1991) The impact of impregnated mosquito nets on prevalence and morbidity related to malaria in sub-Saharan africa. *Ann Soc Belg Med Trop*, 71 Suppl 1, 127-50.
- CHEN, H., FILLINGER, U. & YAN, G. (2006) Oviposition behavior of female *Anopheles gambiae* in western Kenya inferred from microsatellite markers. *Am J Trop Med Hyg*, 75, 246-50.
- COETZEE, M., HUNT, R. H., WILKERSON, R., DELLA TORRE, A., COULIBALY, M. B. & BESANSKY, N. J. (2013) *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex, *Zootaxa*, 3619, 246-274.
- COLUZZI, M. (1993) Advances in the study of Afrotropical malaria vectors. *Parassitologia*, 35 Suppl, 23-9.
- COZ, J. (1973) Contribution à l'étude du parasitisme des anophèles Ouest-Africain Mermithidae et Coelomomuces. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, XI (4), 237-241.
- CRAWLEY, M. J. (2013) *The R Book*, British Library.
- DABIRÉ, K. R., DIABATE, A., NAMOUNTOUNGOU, M., TOE, K. H., OUARI, A., KENGNE, P., BASS, C. & BALDET, T. (2009) Distribution of pyrethroid and DDT resistance and the L1014F kdr mutation in *Anopheles gambiae* s.l. from Burkina Faso (West Africa). *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 103, 1113-20.
- DE BARJAC, H. (1978) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for larvae of *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*, 286, 1175-8.
- DE BARJAC, H., & COZ, J. (1979) Comparative sensitivities of six different species of mosquitoes to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Bull World Health Organ*, 57, 139-41.
- DIABATÉ, A., BRENGUES, C., BALDET, T., DABIRÉ, K. R., HOUGARD, J. M., AKOGBETO, M., KENGNE, P., SIMARD, F., GUILLET, P., HEMINGWAY, J. & CHANDRE, F. (2004) The spread of the Leu-Phe kdr mutation through *Anopheles*

- gambiae* complex in Burkina Faso: genetic introgression and de novo phenomena. *Trop Med Int Health*, 9, 1267-73.
- DJEGBE, I., BOUSSARI, O., SIDICK, A., MARTIN, T., RANSON, H., CHANDRE, F., AKOGBETO, M. & CORBEL, V. (2011) Dynamics of insecticide resistance in malaria vectors in Benin: first evidence of the presence of L1014S kdr mutation in *Anopheles gambiae* from West Africa. *Malar J*, 10, 261.
- ELISSA, N., MOUCHET, J., RIVIERE, F., MEUNIER, J. Y. & YAO, K. (1993) Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Cote d'Ivoire. *Ann Soc Belg Med Trop*, 73, 291-4.
- FERGUSON, H. M. & READ, A. F. (2002) Why is the effect of malaria parasites on mosquito survival still unresolved? *Trends Parasitol*, 18, 256-61.
- FERNANDEZ-LUNA, M. T., LANZ-MENDOZA, H., GILL, S. S., BRAVO, A., SOBERON, M. & MIRANDA-RIOS, J. (2010) An alpha-amylase is a novel receptor for *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* Cry4Ba and Cry11Aa toxins in the malaria vector mosquito *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Environ Microbiol*, 12, 746-57.
- FILLINGER, U., & LINDSAY, S. W. (2006) Suppression of exposure to malaria vectors by an order of magnitude using microbial larvicides in rural Kenya. *Tropical Medicine & International Health*, 11, 1629-1642.
- FILLINGER, U., KNOLS, B. G. & BECKER, N. (2003) Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in Western Kenya. *Trop Med Int Health*, 8, 37-47.
- FLETCHER, M., TEKLEHAIMANOT, A. & YEMANE, G. (1992) Control of mosquito larvae in the port city of Assab by an indigenous larvivorous fish, *Aphanius dispar*. *Acta Trop*, 52, 155-66.
- GARRETT-JONES, C. (1964) The Human Blood Index of Malaria Vectors in Relation to Epidemiological Assessment. *Bull World Health Organ*, 30, 241-61.
- GILLES, J. R., LEES, R. S., SOLIBAN, S. M. & BENEDICT, M. Q. (2011) Density-dependent effects in experimental larval populations of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) can be negative, neutral, or overcompensatory depending on density and diet levels. *J Med Entomol*, 48, 296-304.
- GOLVAN, Y.-J. Y.-J. (1983) *Éléments de parasitologie médicale*, Paris, Flammarion médecine sciences.
- GOUAGNA, L. C., MULDER, B., NOUBISSI, E., TCHUINKAM, T., VERHAVE, J. P. & BOUDIN, C. (1998) The early sporogonic cycle of *Plasmodium falciparum* in laboratory-infected *Anopheles gambiae*: an estimation of parasite efficacy. *Trop Med Int Health*, 3, 21-8.
- GRECH, K., MAUNG, L. A. & READ, A. F. (2007) The effect of parental rearing conditions on offspring life history in *Anopheles stephensi*. *Malar J*, 6, 130.
- GRIMSTAD, P. R., & WALKER, E. D. (1991) *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) and La Crosse virus. IV. Nutritional deprivation of larvae affects the adult barriers to infection and transmission. *J Med Entomol*, 28, 378-86.
- GUILLET, P., & DE BARJAC, H. (1979) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for *Simulium* larvae, vectors of onchocerciasis. *C R Seances Acad Sci D*, 289, 549-52.
- KOELLA, J. C., & SORENSE, F. L. (2002) Effect of adult nutrition on the melanization immune response of the malaria vector *Anopheles stephensi*. *Med Vet Entomol*, 16, 316-20.
- KOELLA, J. C., LORENZ, L. & BARGIELOWSKI, I. (2009) Microsporidians as evolution-proof agents of malaria control? *Adv Parasitol*, 68, 315-27.

- KOENRAADT, C. J., PAAIJMANS, K. P., SCHNEIDER, P., GITHEKO, A. K. & TAKKEN, W. (2006) Low larval vector survival explains unstable malaria in the western Kenya highlands. *Trop Med Int Health*, 11, 1195-205.
- LACEY, L. A. (2007) *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *bacillus sphaericus* for mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc*, 23, 133-163.
- LARIVIÈRE, M. (1987) *Parasitologie médicale*, Paris, Ellipses.
- LEFÈVRE, T., VANTAUX, A., DABIRÉ, K. R., MOULINE, K. & COHUET, A. (2013) Non-genetic determinants of mosquito competence for malaria parasites. *PLoS Pathog*, 9, e1003365.
- LEHMANN, T., DALTON, R., KIM, E. H., DAHL, E., DIABATE, A., DABIRÉ, R. & DUJARDIN, J. P. (2006) Genetic contribution to variation in larval development time, adult size, and longevity of starved adults of *Anopheles gambiae*. *Infect Genet Evol*, 6, 410-6.
- LINES, J. (1996) Review: mosquito nets and insecticides for net treatment: a discussion of existing and potential distribution systems in Africa. *Trop Med Int Health*, 1, 616-32.
- LORENZ, L. M. & KOELLA, J. C. (2011) Maternal environment shapes the life history and susceptibility to malaria of *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Malar J*, 10, 382.
- LOUIS, J. P., & ALBERT, J. P. (1988) Malaria in the Republic of Djibouti. Strategy for control using a biological antilarval campaign: indigenous larvivorous fishes (*Aphanius dispar*) and bacterial toxins. *Med Trop (Mars)*, 48, 127-31.
- LYIMO, E. O., & TAKKEN, W. (1993) Effects of adult body size on fecundity and the pre-gravid rate of *Anopheles gambiae* females in Tanzania. *Medical and Veterinary Entomology*, 7, 328-332.
- LYIMO, E. O. & KOELLA, J. C. (1992) Relationship between body size of adult *Anopheles gambiae* s.l. and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology*, 104 (Pt 2), 233-7.
- LYIMO, M. H., NYAGWEGWE, S. & MNKENI, A. P. (1991) Investigations on the effect of traditional food processing, preservation and storage methods on vegetable nutrients: a case study in Tanzania. *Plant Foods Hum Nutr*, 41, 53-7.
- MABASO, M. L., SHARP, B. & LENGELER, C. (2004) Historical review of malarial control in southern African with emphasis on the use of indoor residual house-spraying. *Trop Med Int Health*, 9, 846-56.
- MAJAMBERE, S., LINDSAY, S. W., GREEN, C., KANDEH, B. & FILLINGER, U. (2007) Microbial larvicides for malaria control in The Gambia. *Malar J*, 6, 76.
- MOUCHET, J., & CARNEVALE, P. (1991a) *Vectors and transmission*, Paris, Ellipses/UREF.
- MOUCHET, J., & CARNEVALE, P. (1997) Impact of changes in the environment on vector-transmitted diseases. *Sante*, 7, 263-9.
- MOUCHET, J., & COOSEMANS, M. (1991b) Which structures in anti-vector control? *Ann Soc Belg Med Trop*, 71 Suppl 1, 259-66.
- MOUCHET J., C. P., 1991 (1991) *Vectors and transmission*, Paris, Ellipses/UREF.
- N'GUESSAN, R., CORBEL, V., AKOGBETO, M. & ROWLAND, M. (2007) Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerg Infect Dis*, 13, 199-206.
- NAMOUNTOUGOU, M., SIMARD, F., BALDET, T., DIABATE, A., OUEDRAOGO, J. B., MARTIN, T. & DABIRE, R. K. (2012) Multiple insecticide resistance in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Burkina Faso, West Africa. *PLoS One*, 7, e48412.
- NARTEY, R., OWUSU-DABO, E., KRUPPA, T., BAFFOUR-AWUAH, S., ANNAN, A., OPPONG, S., BECKER, N. & OBIRI-DANSO, K. (2013) Use of *Bacillus*

- thuringiensis* var *israelensis* as a viable option in an Integrated Malaria Vector Control Programme in the Kumasi Metropolis, Ghana. *Parasit Vectors*, 6, 116.
- NASCI, R. S. (1990) Relationship of wing length to adult dry weight in several mosquito species (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*, 27, 716-9.
- OKECH, B. A., GOUAGNA, L. C., KABIRU, E. W., BEIER, J. C., YAN, G. & GITHURE, J. I. (2004) Influence of age and previous diet of *Anopheles gambiae* on the infectivity of natural *Plasmodium falciparum* gametocytes from human volunteers. *J Insect Sci*, 4, 33.
- OMS (2004) Report of the Seventh WHOPEP Working Group Meeting : WHO/HQ, Geneva, 2-4 December 2003 : review of VectoBac WG, PermaNet, Gokilaht-S 5EC., Switzerland, Geneva, Switzerland : World Health Organization, Communicable Disease Control, Prevention and Eradication, WHO Pesticide Evaluation Scheme, c2004.
- OMS (2013) A supplementary measure for malaria vector control. IN WWW.WHO.INT (Ed.). Geneva, WHO Press,.
- PFAEHLER, O., OULO, D. O., GOUAGNA, L. C., GITHURE, J. & GUERIN, P. M. (2006) Influence of soil quality in the larval habitat on development of *Anopheles gambiae* Giles. *J Vector Ecol*, 31, 400-5.
- QUELENNEC, G. (1970) Field studies of new formulations of insecticides, OMS-187, OMS-786, and OMS-971, against the larva of sand-flies. *Bull World Health Organ*, 43, 313-6.
- R CORE TEAM (2013) R: a language and environment for statistical computing.
- RODHAIN, F. (1985) Précis d'entomologie médicale et vétérinaire : notions d'épidémiologie des maladies à vecteurs, Paris, Maloine.
- SANGARE, I., MICHALAKIS, Y., YAMEOGO, B., DABIRE, R., MORLAIS, I. & COHUET, A. (2013) Studying fitness cost of *Plasmodium falciparum* infection in malaria vectors: validation of an appropriate negative control. *Malar J*, 12, 2.
- SATYANARAYAN TIWARI, S. K. G., 1 PRADEEP K. MITTAL,2 AND ADITYA P. DASH2,* (2011) Effectiveness of a New Granular Formulation of Biolarvicide *Bacillus thuringiensis* Var. *israelensis* Against Larvae of Malaria Vectors in India. *VECTOR-BORNE AND ZOONOTIC DISEASES*, Volume 11.
- SUWANCHAICHINDA, C., & PASKEWITZ, S. M. (1998) Effects of larval nutrition, adult body size, and adult temperature on the ability of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) to melanize sephadex beads. *J Med Entomol*, 35, 157-61.
- TAKKEN, W., KLOWDEN, M. J. & CHAMBERS, G. M. (1998) Effect of body size on host seeking and blood meal utilization in *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae): the disadvantage of being small. *J Med Entomol*, 35, 639-45.
- TAKKEN, W., SMALLEGANGE, R. C., VIGNEAU, A. J., JOHNSTON, V., BROWN, M., MORDUE-LUNTZ, A. J. & BILLINGSLEY, P. F. (2013) Larval nutrition differentially affects adult fitness and *Plasmodium* development in the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi*. *Parasit Vectors*, 6, 345.
- TCHINDA, G. G., ATASHILI, J., ACHIDI, E. A., KAMGA, H. L., NJUNDA, A. L. & NDUMBE, P. M. (2012) Impact of malaria on hematological parameters in people living with HIV/AIDS attending the Laquintinie Hospital in Douala, Cameroon. *PLoS One*, 7, e40553.
- TIWARI, S., GHOSH, S. K., MITTAL, P. K. & DASH, A. P. (2011) Effectiveness of a new granular formulation of biolarvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against larvae of malaria vectors in India. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11, 69-75.

- TUSTING, L. S., THWING, J., SINCLAIR, D., FILLINGER, U., GIMNIG, J., BONNER, K. E., BOTTOMLEY, C. & LINDSAY, S. W. (2013) Mosquito larval source management for controlling malaria. *Cochrane Database Syst Rev*, 8, CD008923.
- VAUGHAN, J. A., NODEN, B. H. & BEIER, J. C. (1994) Sporogonic development of cultured *Plasmodium falciparum* in six species of laboratory-reared *Anopheles* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg*, 51, 233-43.
- VEZILIER, J., NICOT, A., GANDON, S. & RIVERO, A. (2012) *Plasmodium* infection decreases fecundity and increases survival of mosquitoes. *Proc Biol Sci*, 279, 4033-41.
- YOHANNES, M., HAILE, M., GHEBREYESUS, T. A., WITTEN, K. H., GETACHEW, A., BYASS, P. & LINDSAY, S. W. (2005) Can source reduction of mosquito larval habitat reduce malaria transmission in Tigray, Ethiopia? *Tropical Medicine & International Health*, 10, 1274-1285.