

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR, DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET DE
L'INNOVATION

SECRETARIAT GENERAL

UNIVERSITE NAZI BONI

ECOLE DOCTORALE DES
SCIENCES DE LA SANTE (ED-SDS)

FORMATION DOCTORALE EN
PARASITOLOGIE MEDICALE



BURKINA FASO
Unité-Progress-Justice

Année académique: 2016 -2017.

Mémoire N° 23

Effet de l'irradiation sur la compétence vectorielle d'*Anopheles arabiensis* pour *Plasmodium falciparum*.

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le 21 / 12 / 2017

Pour l'obtention du diplôme de **Master en Parasitologie-Entomologie-Mycologie médicales**

Par

Edwige GUISSOU

Directeur du mémoire: Pr. Roch K. Dabiré

Co-directeur: Dr. Thierry Lefèvre

JURY

Président : **Pr. Georges Anicet OUEDRAOGO**, Professeur titulaire, Président de UNB

Membres :

- **Pr. Roch K. DABIRE**, Directeur de recherche, IRSS-DRO / CNRST

- **Dr. Issa SIDIBE**, Directeur Général IBD-CETT, Coordonnateur National PATTEC-BF

Dédicaces

Au tout Puissant, pour m'avoir guidé et donné la force nécessaire de réaliser ce travail.

A mes parents, pour m'avoir toujours soutenu. Que Dieu vous donne de vivre encore longtemps auprès de vos enfants.

A mon tuteur Tondé Daouda et à toute sa famille, pour l'accueil cordial et les soutiens multiples. Que Dieu vous rende au centuple vos bienfaits.

A toute la famille et à tous mes amis, pour tout ce que chacun de vous a été pour moi dans mes études.

Remerciements

Pr. Tinga Robert GUIGUEMDE: Professeur titulaire de parasitologie, Doyen de l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé (INSSA). Merci à vous pour l'opportunité que vous m'avez offerte de pouvoir m'inscrire à ce MASTER.

Pr. Roch K. Dabiré: Directeur de recherche, Directeur de L'IRSS/DRO, Directeur du mémoire, je vous remercie pour m'avoir accueilli à bras ouverts dans votre unité d'entomologie médicale et pour m'avoir permis de découvrir le monde de la recherche. Merci aussi pour m'avoir confié ce travail et accepté sa direction avec rigueur et disponibilité malgré vos multiples occupations. Vous nous fait bénéficier de votre grande compétence en matière de recherche en entomologie médicale et ceci est un grand honneur pour moi d'être votre étudiante. Vos qualités exceptionnelles de formateur et l'étendu immense de vos connaissances, jointes à votre générosité et votre modestie font de vous une référence. Je ne saurez-vous remercier assez, que Dieu vous le rende à hauteur de sa volonté.

Dr Thierry Lefèvre, Chargé de recherche, Co-directeur du mémoire, alors que vous me connaissez à peine, vous avez accepté sans hésitation à m'encadrer. Vos qualités humaines, votre rigueur scientifique, votre disponibilité et votre sens de l'écoute m'ont permis d'apprendre et de mener à bien ce travail. Je vous remercie infiniment.

Dr Olivier Roux, pour votre intérêt et votre disponibilité pour ce travail. Merci Dr pour les différents conseils et suggestions très pertinentes.

A toute l'équipe infectivité : **Dr Serge Yerbanga, Dr Thierry Lefèvre, Dr Da Dari Frédéric, Dr Olivier Roux, Dr Sangaré Ibrahim, Dr Karine Mouline, Dr Frank A Yao, Dr François DS Hien, Bienvenue K. Yaméogo, Raymond Hien, Bali Jean Bazié, Souleymane Tamboula, Serge Poda, Nikiema Aboubacar, Somé Bernard, Seydou Bienvenu Ouattara, Fofana Aminata, Dabiré Baudouin, Da Fulgence, Hélène Somé, Arzouma Diasso, Fayama** merci pour la formation reçue, le plateau technique accordé, vos services, vos soutiens multiples, toute l'attention, l'aide accordée à ce travail et surtout l'environnement propice au travail. Avec vous je me suis toujours senti en famille.

Un merci particulier à Dr François DS Hien et à Bienvenue K. Yaméogo, dont le soutien et les conseils multiformes m'ont toujours aidé dans le bon déroulement de mes travaux.

Merci également à **Da Fulgence** avec qui j'ai appris l'élevage des moustiques à l'insectarium et aussi les bons moments passés à tes côtés.

Aux camarades étudiants de l'IRSS: **Dr François DS Hien, Koama Bayili, Serge Poda, Bilgo Etienne, Somé Bernard, Seydou Bienvenu Ouattara, Gnambani Jacques, Fofana Aminata, Bazié Thomas, Sawadogo Hamadé, Nignan Charles, Soma D. Dieudonné, Coulibaly Sanata, Bamogo Rabila, Neya Catherine** merci à vous pour vos soutiens, conseils et l'environnement propice au travail dont vous m'avez témoigné.

A toute l'équipe du laboratoire irradiation du CIRDES, merci à vous pour l'accueil au sein de vos locaux, vos services et pour le climat de fraternité que vous m'avez témoigné. Que Dieu bénisse tout un chacun au-delà de ses attentes.

A mes encadreurs du master : **Pr Sanata Bamba, Pr Halidou Tinto, Pr Roch K Dabiré, Dr Ibrahim Sangaré, Dr Mamadou Cissé, Dr Maxime Drabo, Dr Yacouba Sourabié, Dr Léon Sawadogo**, l'Inspecteur **Djakalia Cissé, Dr Hermann Sorgho, Dr Michel K. Gomgnimbou**, merci à vous pour les enseignements et les conseils reçus pendant les deux années de formations.

A mes promotionnaires du master de parasitologie ou encore l'équipe parfaite: **Yerbanga Isidore, Valléa Marcelin, Sibi Roger, Amona Modeste, Compaoré Franck Alfred, Kambou Sansan Simplicite et Sodré Aicha**. Merci pour les bons moments passés ensemble durant les deux ans de formation, vos soutiens multiples, conseils et vos encouragements constants.

A tout le **Personnel** de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/Bobo) et du Centre Muraz, merci pour l'accueil et les soutiens multiformes.

Je tiens à remercier très sincèrement les membres du jury pour avoir accepté sans hésitation d'évaluer et de juger ce travail. Je suis convaincue que vos suggestions, remarques et critiques contribueront à l'amélioration de ce manuscrit. Soyez assurés de mon très grand respect et de ma profonde reconnaissance.

Résumé

Une séparation efficace des sexes des vecteurs du paludisme est une étape essentielle de la technique de l'insecte stérile (TIS) qui repose, chez les moustiques, au lâcher en masse de mâles stériles. Cependant, les techniques de séparation présentent souvent des limites qui permettent à quelques femelles d'échapper au tri. Cette petite proportion de femelles peut ainsi contribuer à la transmission du paludisme lorsqu'elles sont relâchées avec les mâles stériles. Cette étude vise à déterminer l'effet de l'irradiation sur la compétence des femelles d'*Anopheles arabiensis* pour *Plasmodium falciparum*.

Les nymphes d'*An. arabiensis* ont été séparées en deux groupes : le premier soumis à une dose d'irradiation d'environ 70Gy et le second non soumis à l'irradiation (contrôle). Après l'irradiation, le taux d'émergence a été comparé dans les deux groupes. Trois jours après l'émergence, les femelles de chaque groupe ont été infectées expérimentalement à partir de sang de porteur de gamétocytes de *P. falciparum* et le taux de gorgement a été également comparé dans ces deux groupes. Sept jours après le repas de sang infectieux, une cinquantaine de femelles de chaque groupe (irradié vs contrôle) a été disséquée pour évaluer la présence et la quantité d'oocystes dans l'estomac des moustiques. Quatorze jours après le repas de sang infectieux, une cinquantaine de femelles a été disséquée (tête et thorax) pour évaluer la présence de sporozoïtes dans les glandes salivaires des moustiques. La survie des femelles a été également suivie en premier lieu dans les grandes cages destinées à la mesure de la compétence et en second lieu dans des petites cages destinées à la longévité. Enfin un autre lot de femelles de chaque groupe a été utilisé pour déterminer le taux d'oviposition en les soumettant à deux repas de sang sur lapin et mises en pontes individuelles.

Nos résultats indiquent que la proportion de moustiques infectés au stade oocystes était significativement réduite chez les femelles irradiées (35%) par rapport au groupe contrôle (45%). Par contre pour le stade sporozoïte, il n'y avait pas de différence statistiquement significative du taux d'infection dans les deux groupes car tous les porteurs n'ont pas été considérés. Il y avait un effet significatif de l'irradiation sur la ponte des femelles (LRT $\chi^2=86.02$; $df=1$; $P<0.001$). En effet aucune des femelles irradiées n'avait pondu.

L'irradiation provoque une réduction de l'infection chez les femelles d'*An. arabiensis* pour *P. falciparum* mais cet effet dépend des isolats de gamétocytes. L'irradiation a également causé une stérilité totale sur les femelles d'*An. arabiensis* par l'absence de la production d'œufs.

Mots clés : Technique de l'Insecte Stérile (TIS), *Anopheles arabiensis*, compétence vectorielle, *Plasmodium falciparum*

Abstract

Effective sex separation of malaria vectors is an important precondition in the sterile insect technique (SIT), which rests in mosquitoes on the mass release of males. However, separation techniques often have limitations leading to the escape of a small proportion of females, which can thus contribute to the transmission of malaria when released with sterile males. This study aimed to determine the effect of irradiation on the competence of *Anopheles arabiensis* females for *Plasmodium falciparum*.

Pupae of *An. arabiensis* were separated into two groups: the first subjected to irradiation and the second not subjected to irradiation (control). After irradiation, the emergence rate was compared in both groups. Three days after emergence, females from each group were experimentally infected from *P. falciparum* gametocyte carrier blood and the feeding rate was also compared in these two groups. Seven days after the blood meal, about 50 females from each group to eight carriers were dissected to assess the presence of oocysts and 14 days later, about 50 head and thorax from each group to four carriers were dissected to assess the presence of sporozoites. Survival was recorded in large cages intended to dissection for competence and another proportion of mosquitoes was used to measure their longevity. The aim is to estimate (i) the effects of irradiation on adult longevity, (ii) the effects of infection on longevity and the combined effects of irradiation and infection on longevity.

Another proportion of females in irradiated and control groups was used to determine the prevalence of eggs by subjecting them to two meals of rabbit blood and individual laying.

Our results indicate that the proportion of oocyst-infected mosquitoes was significantly reduced in irradiated females (35%) compared to the control group (45%). On the other hand, for the sporozoite stage, there was no statistically significant difference in the infection rate in the two groups because all carriers were not considered. There was a statistically significant effect of irradiation on female egg-laying (LRT $\chi^2 = 86.02$, $df = 1$, $P < 0.001$). Indeed all irradiated females had not laid.

Irradiation caused a reduction in *An. arabiensis* competence for *P. falciparum* but this effect depends on gametocyte isolates. Irradiation also caused a total infertility on *An. arabiensis* females revealed by the absence of eggs production.

Key words: Sterile Insect Technique (SIT), *Anopheles arabiensis*, competence, *Plasmodium falciparum*

Table des matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Résumé	iv
Abstract	v
Liste des abréviations et sigles	viii
Liste des figures	x
Introduction	1
1. Généralités	5
1.1. Définition du paludisme.....	5
1.2. Agent pathogène	5
1.2.1. Taxonomie.....	5
1.2.2. Morphologie.....	6
1.2.3. Cycle évolutif.....	7
1.3. Vecteurs du paludisme.....	10
1.3.1. La morphologie et le cycle biologique des anophèles	10
1.3.2. Bioécologie	13
1.3.3. Définition de la capacité et de la compétence vectorielle	13
1.3.4. Lutte anti-vectorielle	14
2. Méthodologie.....	21
2.1. Type et période de l'étude	21
2.2. Matériels et méthode	21
2.2.1. Matériels	21
2.2.2. Méthode	22
3. Résultats	30
3.1. Taux d'émergence	30
3.2. Taux de gorgement	30
3.3. Compétence des femelles irradiées et contrôles	31
3.3.1. Prévalence en oocyste	32
3.3.2. Intensité en oocyste.....	32
3.3.3. Survie des moustiques entre 1-7 jours post-infection dans les grandes cages de la compétence en oocyste.....	33
3.3.4. Prévalence en sporozoïtes	34
3.3.5. Survie des moustiques entre 7-18 jours post-infection dans les grandes cages de la compétence en sporozoïtes.....	35
3.4. Effets de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques	35
3.5. Effet de l'irradiation sur le taux d'oviposition des femelles irradiées et contrôles.....	36

4. Discussion	37
4.1. Taux d'émergence	37
4.2. Taux de gorgement	37
4.3. Compétence des moustiques.....	37
4.4. Effets de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques	39
4.5. Prévalence des œufs.....	41
Conclusion	42
Références bibliographiques	43

Liste des abréviations et sigles

An.	: <i>Anopheles</i>
C	: Capacité Vectorielle
CE-CM	: Comité Ethique- Centre Muraz
CV	: Compétence Vectorielle
CIRDES	: Centre International de Recherche-Développement sur l'Elevage en zone Sub-humide
Cs	: Césium
I+	: Irradié
I⁻	: Non Irradié
IC	: Intervalle de confiance
IRSS	: Institut de Recherché en Science de la Santé
Gy	: Gray (unité de mesure de dose absorbée)
J	: Jour
L	: Larve
LAV	: Lutte Anti Vectorielle
MID	: Moustiquaire à Imprégnation Durable
MII	: Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides
MILD	: Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides à Longue Durée
MILDA	: Moustiquaires Imprégnées d'Insecticides à Longue Durée d'Action

OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
<i>P.</i>	: <i>Plasmodium</i>
PCR	: Polymérase Chaîne Réaction
qPCR	: PCR quantitative ou PCR en temps réel
PCR-RFLP	: Polymerase Chain Reaction -Restriction Fragment Length Polymorphism
PID	: Pulvérisation intra domiciliaire
PIE	: Période d'Incubation Extrinsèque
r	: Roetgen, unité de mesure de l'exposition aux rayonnements X et gamma d'énergie inférieure à 3 Mev. Cette mesure est abandonnée au profit de la mesure de la dose absorbée.
TIS	: Technique de l'Insecte Stérile
PNLP	: Programme National de Lutte contre le Paludisme
USDA	: United States Department of Agriculture (Département de l'Agriculture des Etats-Unis)

Liste des figures

Figure 1 : Nymphe femelle (à gauche) et mâle (à droite) d' <i>An. gambiae</i> . Les cercles indiquent la différence entre les génitalia de la femelle et du mâle (Photo de M. Fraiture, modifié d'après (Maiga 2015)).	3
Figure 2 : Cycle évolutif de <i>Plasmodium</i> sp	9
Figure 3: Différents stades du cycle biologique des anophèles (modifié d'après Williams & Pinto 2012).	12
Figure 4 : Rampe d'infection expérimentale : (A) Dispositif complet, avec le bain marie, les cellules de gorgement et (B) les cellules de gorgement et les gobelets en dessous avec des moustiques (Hien 2016)	22
Figure 5 : Les différentes étapes de l'infection expérimentale avec des isolats de <i>P. falciparum</i> d'après (Hien 2016).	25
Figure 6 : Détection microscopique d'oocystes dans l'estomac du moustique d'après (Hien 2016).	26
Figure 7 : Proportion moyenne d'émergence ($\pm se$) des nymphes irradiées (rouge) et des contrôles (bleu). Les chiffres à l'intérieur des barres indiquent le nombre total de nymphes utilisées pour chaque groupe.	30
Figure 8 : Proportion moyenne de gorgement ($\pm se$) des femelles irradiées et contrôles. Les chiffres à l'intérieur des barres indiquent le nombre total de femelles exposées au sang infectieux pour chaque groupe.	30
Figure 9 : Prévalence ($\pm 95\%$ IC) en oocyste des groupes irradié et contrôle. Chaque lettre capitale représente un porteur de gamétocyte (n=8). (NB : La prévalence en oocyste n'a pas été mesurée pour le porteur B à cause d'une erreur de manipulation.)	32
Figure 10 : Intensité moyenne ($\pm se$) en oocyste dans les deux groupes, irradié et contrôle.	33
Figure 11 : Taux de survie de 1-7jours post-infection.	33
Figure 12 : Prévalence en sporozoïtes (proportion de femelles avec une présence de sporozoïtes dans les glandes salivaires). Seuls quatre porteurs de gamétocytes sur 8 ont été utilisés à cause d'un nombre réduit de moustiques (c'est-à-dire qu'après dissection à J7 il n'y avait pas de moustiques pour les porteurs A, B, C, D et G).	34
Figure 13 : Taux de survie de 8-18jours post-infection.	35
Figure 14 : Effets de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques	36
Figure 15: Effet de l'irradiation sur le taux d'oviposition des femelles. Les chiffres à l'intérieur des barres indiquent le nombre total de femelles soumises aux pontes individuelles pour chaque groupe.	36

Tableau

Tableau I : Effet de l'irradiation sur la compétence d'*An. arabiensis* pour *P. falciparum*..... 31

Introduction

Le paludisme est causé par des parasites hématozoaires du genre *Plasmodium* et transmis à l'Homme par la piqûre d'un moustique, l'anophèle femelle infecté. Cinq espèces de *Plasmodium* sont pathogènes pour l'Homme: *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. knowlesi*. *P. falciparum* est la plus importante en termes de santé publique puisqu'elle est responsable de la majorité des cas de maladies graves et de décès liés au paludisme. Cette maladie est connue depuis l'antiquité mais demeure, par sa fréquence, son ampleur et sa répartition, l'endémie parasitaire majeure des zones tropicales. C'est une maladie complexe et mortelle menaçant près de la moitié de la population mondiale. La plupart des cas de paludisme et des décès dus à cette maladie surviennent en Afrique subsaharienne. Toutefois, l'Asie du Sud-Est, l'Amérique latine et le Moyen-Orient sont également affectés. En 2015, 212 millions de cas de paludisme (dont 90% en Afrique) et 429 000 décès (dont 92% en Afrique) ont été recensés à travers le monde (OMS 2016). La majorité de ces cas (70%) concerne les enfants de moins de 5 ans. Au Burkina Faso, le paludisme représente 45,7% des motifs de consultation, 45,6% d'hospitalisation et 25,2% des décès dans les formations sanitaires (Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) 2016).

En l'absence d'un vaccin fiable, la lutte contre le paludisme repose essentiellement sur les outils thérapeutiques dirigés contre le parasite (traitement antipaludique, la prévention par la chimioprophylaxie) et la lutte anti-vectorielle (LAV) qui cible le vecteur (Dabiré et al. 2009). Cependant, de ces moyens de lutte contre le paludisme, la lutte anti-vectorielle demeure la mesure la plus efficace pour contrôler la transmission (Bhatt et al. 2015). Elle se focalise essentiellement sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations (PID). Malgré leur efficacité, les techniques actuelles de lutte anti-vectorielle montrent de plus en plus leurs limites avec notamment l'apparition de résistances aux insecticides (N'Guessan et al. 2003; Diabaté et al. 2002; Dabiré et al. 2008; Namountougou et al. 2012; Ranson et al. 2011; Hemingway et al. 2016), d'où la nécessité de trouver des solutions alternatives et/ou complémentaires à ces outils de lutte anti-vectorielle (McGraw & O'Neill 2013). L'une d'entre elles repose sur la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) qui vise à contrôler les populations vectorielles par le lâcher de mâles stériles. Elle est intégrée dans la lutte génétique et consiste à introduire massivement des moustiques mâles « stériles » au sein des populations de moustiques dites « sauvages », afin de réduire considérablement le nombre

d'adultes dans les générations suivantes (Knipling 1955; Knipling et al. 1968; Dyck et al. 2005; Robinson et al. 2009).

Historiquement, c'est dans les années 30, que deux entomologistes du département de l'Agriculture des États-Unis (United States Department of Agriculture, USDA), Raymond Bushland et Edward Knipling (Menard, Texas), ont recherché une alternative à l'emploi massif d'insecticides contre la lucilie bouchère (*Cochliomyia hominivorax*, *Diptera*). C'est ainsi qu'est apparu le concept de lutte autocide. Celui-ci consiste à casser le cycle de reproduction des insectes par le lâcher de mâles stériles (Knipling 1955; Knipling et al. 1968). Cette stratégie de lutte anti-vectorielle se veut plus respectueuse de l'environnement. La stérilité des mâles est induite au stade nymphal ou adulte en les exposants à de faibles doses de radiations en évitant toutefois de léser leur capacité vitale, leur vigueur et leur compétitivité sexuelle (Helinski et al. 2006). Les sources de stérilisation sont multiples et comprennent la stérilisation par des agents ionisants (rayons gamma qui sont les plus utilisés ou des rayons X) et par des produits chimiques (chimiostérilisation) en laboratoire (Dame et al. 2009).

Depuis les années 70, la TIS a fait ses preuves dans le contrôle de plusieurs nuisances causées par des mouches attaquant les cultures ou le bétail tels que la lucilie bouchère (Lindquist et al. 1993), la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitis capitata*) (Hendrichs et al. 2005) et la mouche tsé tsé au Zanzibar (*Glossina* sp.) (Vreysen et al. 2000). Chez les moustiques, le lâcher expérimental au Salvador d'*An. albimanus* chimiostérilisés a également permis de réduire significativement la transmission du paludisme suite à la réduction de la population sauvage de cette espèce (Dame et al. 1974).

De nos jours, l'intérêt international pour le développement et la mise en place de la TIS appliquée au contrôle des populations de moustiques s'est renforcé avec, en plus de la persistance du paludisme, les récentes épidémies virales de dengue, Zika et Chikungunya, (Lees et al. 2015; Klassen 2009; OMS 2016). Au niveau du paludisme, l'accent est mis sur l'espèce *An. arabiensis* (un de ses vecteurs principaux) car différents aspects de son élevage en masse et de sa stérilisation ont été bien étudiés (Helinski et al. 2006; Ndo et al. 2014; Helinski et al. 2008; Helinski & Knols 2009). Cependant, la séparation des sexes est encore imparfaite et reste une des conditions préalables à l'application de la TIS (Munhenga et al. 2016; Gilles et al. 2014; Papathanos et al. 2009). Chez les anophèles, le sexage se fait la plupart du temps de façon mécanique au stade nymphal (sexage à la loupe binoculaire nymphe par nymphe). Il existe en effet au stade nymphal un dimorphisme clairement défini au

niveau de la forme des génitalia (Papathanos et al. 2009), beaucoup plus courts chez la femelle et plus allongés chez le mâle (voir photo ci-dessous).



Figure 1 : Nympe femelle (à gauche) et mâle (à droite) d'*An. gambiae*. Les cercles indiquent la différence entre les génitalia de la femelle et du mâle (Photo de M. Fraiture, modifié d'après (Maiga 2015)).

Des stratégies qui tuent sélectivement les femelles sont également disponibles (Yamada et al. 2013; Gilles et al. 2014), mais celles-ci restent imparfaites et une petite proportion de femelles échappe au sexage avant l'irradiation (Yamada et al. 2014; Papathanos et al. 2009; Dandolo et al. 2017). Ces femelles seront irradiées avec les mâles et peuvent donc éventuellement contribuer à la transmission du paludisme lorsqu'elles sont relâchées sur le terrain. Il est donc crucial de déterminer l'effet de l'irradiation sur la capacité des femelles d'anophèles à transmettre *P. falciparum*.

A notre connaissance une seule étude a porté sur la relation stérilisation-infection des moustiques femelles (Terzian 1953) et concernait un modèle de laboratoire. Cette étude a porté sur l'effet de l'irradiation sur la susceptibilité des femelles d'*Aedes aegypti* à l'infection au *Plasmodium gallinaceum* via des poussins infectés (Terzian 1953). Elle avait utilisé des rayons X à différentes doses et le taux d'infection diminuait quand les doses de stérilisation augmentaient. Ainsi donc, si une étude de laboratoire a pu démontrer que l'irradiation réduisait le taux d'infection, il convient de vérifier cela sur un modèle naturel d'intérêt médical. C'est la raison pour laquelle nous avons, dans cette étude, irradié (avec une seule dose) des femelles de moustique d'*An. arabiensis*, que nous avons ensuite infecté à partir du sang de porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* afin d'estimer le taux d'infection comparativement à un groupe de femelles contrôles (non irradiées).

L'objectif général de cette étude était d'évaluer l'effet de l'irradiation sur la compétence vectorielle d'*An. arabiensis* pour *P. falciparum*.

Il s'agissait plus spécifiquement de :

- Comparer le taux d'émergence des femelles irradiées et des femelles contrôles (non irradiées).
- Comparer le taux de gorgement des femelles irradiées et des femelles contrôles.
- Comparer la prévalence et l'intensité en oocystes des femelles irradiées et des femelles contrôles.
- Comparer la prévalence en sporozoïtes des femelles irradiées et des femelles contrôles.
- Comparer la longévité des femelles irradiées et des femelles contrôles.
- Comparer la fertilité (capacité à produire des œufs) des femelles irradiées et les femelles contrôles.

1. Généralités

1.1. Définition du paludisme

Les plasmodiums sont des protozoaires appartenant à l'embranchement des *Apicomplexa*, à la famille des *Plasmodiidae* et au genre *Plasmodium*. Les manifestations cliniques de cette parasitose sont le plus souvent marquées par une fièvre et des céphalées. Elles peuvent se traduire par des complications neurologiques (neuropaludisme) et une anémie. Le paludisme est la principale endémie parasitaire (212 millions de cas dans le monde et 429 000 de décès en 2015), sévissant essentiellement dans les régions tropicales et intertropicales (OMS 2016).

1.2. Agent pathogène

1.2.1. Taxonomie

Le plasmodium est un parasite intracellulaire dont plus de 140 espèces infectent les hématies de leurs hôtes. Sa position systématique est la suivante:

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Apicomplexa*

Classe : *Sporozoea*

Ordre : *Haemosporida*

Famille : *Plasmodiidae*

Genre : *Plasmodium*

Espèces:

- Du sous genre *Plasmodium*: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*;
- Du sous genre *Laverania*: *P. falciparum*

Plasmodium falciparum (Welch, 1897), espèce la plus pathogène et responsable des cas mortels. Elle est présente dans les zones tropicales d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie et est dominante en Afrique.

Plasmodium vivax (Grassi et Felletti, 1980), coexiste avec *P. falciparum* dans de nombreuses parties du monde et est présente dans certaines régions tempérées.

Plasmodium ovale (Stephens, 1922), principalement trouvé en Afrique de l'Ouest, ne tue pas mais peut entraîner des rechutes 4 à 5 ans après la primo invasion.

Plasmodium malariae (Laveran, 1881), cette espèce ne tue pas. Elle provoque un paludisme de type quarte avec des rechutes à distance allant de 4 à 20 ans après la phase de primo-invasion.

Une autre espèce, *Plasmodium knowlesi*, parasite habituel du singe et morphologiquement identique à *P. malariae*, a été décrite comme parasitant l'Homme (Singh et al. 2004).

1.2.2. Morphologie

Les plasmodies existent sous plusieurs formes morphologiques selon qu'ils soient chez l'Homme ou chez le moustique.

Chez l'Homme on rencontre :

- Les **hypnozoïtes** qui sont les formes quiescents des **sporozoïtes** dans le foie pour les infections à *P. vivax* et *P. ovale*;
- Les **trophozoïtes exo-érythrocytaires** qui ont une taille de 2 à 3µm;
- Les **trophozoïtes endo-érythrocytaires jeunes** : de petite taille avec un cytoplasme annulaire ou en bande avec une vacuole et un noyau excentré;
- Les **trophozoïtes endo-érythrocytaires âgés** sont plus volumineux et polymorphes;
- Les **schizontes mûrs** ou **corps bleus** sont exo-érythrocytaire;
- Les **rosaces** sont endo-érythrocytaire;
- Les **mérozoïtes** sont de forme ovale mesurant approximativement 1,5 µm de long et 1 µm de diamètre. Ils possèdent les organelles d'invasion caractéristiques des *Apicomplexa* (complexe apical, pellicule et revêtement membranaire), qui leur permettent de reconnaître et d'envahir le globule rouge.
- Les **gamétocytes** : corps à potentialité sexuelle, se présentent sous forme de croissant chez *P. falciparum* ou rond chez les autres espèces.

Les formes chez l'anophèle femelle sont :

- Les **gamètes femelles** ou macro-gamètes et les **gamètes mâles** ou micro-gamètes;
- L'**ookinète** ou zygote mobile;
- L'**ocyste** mesure 60 à 80µm, son cytoplasme a une structure syncytiale et les noyaux se divisent de nombreuses fois.
- Les **sporozoïtes** sont des éléments fusiformes mesurant 11-14µm et constituent la forme infectante pour l'Homme.

1.2.3. Cycle évolutif

Le cycle se déroule successivement chez l'**Homme**, hôte intermédiaire (phase asexuée) et chez l'**anophèle femelle**, hôte définitif (phase sexuée). Chez l'Homme le cycle est lui-même divisé en 2 phases : La phase hépatique ou pré-érythrocytaire (encore appelée phase exo-érythrocytaire) qui correspond à la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique et la phase sanguine ou érythrocytaire qui correspond à la phase clinique de la maladie.

1.2.3.1. Chez l'Homme

- Schizogonie pré-érythrocytaire

Les sporozoïtes inoculés par l'anophèle femelle lors de son repas sanguin restent pendant une trentaine de minutes maximum dans la peau, la lymphe et le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages mais certains parviennent à gagner les hépatocytes. Ils se transforment en schizontes pré-érythrocytaires ou « corps bleus » (formes multinucléées) qui, après 7 à 15 jours de maturation, éclatent et libèrent des milliers de mérozoïtes dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces) (Phillips et al. 2017). La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intra-hépatiques restent quiescent (hypnozoïtes) et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée, qui entraîne la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois après la piqûre du moustique, expliquant ainsi les reviviscences tardives observées avec ces deux espèces. Les hypnozoïtes n'existent pas dans l'infection à *P. falciparum* (pas de rechute) et ils n'ont pas été mis en évidence non plus dans l'infection à *P. malariae*, malgré l'existence de rechutes tardives, ni semble-t-il pour *P. knowlesi*.

- Schizogonie érythrocytaire

Très rapidement les mérozoïtes pénètrent dans les globules rouges. La pénétration du mérozoïte dans l'érythrocyte et sa maturation en trophozoïte puis en schizonte prend 24, 48 ou 72 heures (en fonction de l'espèce) et conduit à la destruction du globule rouge hôte et à la libération de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes. Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux globules rouges et débutent un nouveau cycle de réplication (voir figure 2).

Cette partie du cycle correspond à la phase clinique (Phillips et al. 2017) : la parasitémie s'élève, le sujet devient fébrile, c'est l'accès palustre. En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme (on dit qu'ils deviennent synchrones), tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation au même moment,

entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique, toutes les 24 heures (pour *P. knowlesi*), 48 heures (fièvre tierce de *P. falciparum*, *P. vivax* ou *P. ovale*) ou toutes les 72 heures (fièvre quarte de *P. malariae*). En pratique, on observe que la fièvre tierce due à *P. falciparum* est rarement synchrone.

Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée : ils se transforment en gamétocytes à potentiel mâle ou femelle, qui vont rester en circulation dans le sang pendant 10 à 15 jours.

1.2.3.2. Chez l'anophèle femelle

Les gamétocytes, ingérés par le moustique lors d'un repas sanguin sur un sujet infecté, se transforment en gamètes mâles et femelles qui fusionnent en un œuf libre, mobile appelé ookinète. Cet ookinète quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en oocyste. Les oocystes se multiplient à l'intérieur des cellules parasitaires et produisent des centaines de sporozoïtes qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du moustique (Phillips et al. 2017). Ces sporozoïtes sont les formes infectantes prêtes à être inoculées avec la salive du moustique, lors d'un repas sanguin sur un hôte vertébré (voir figure 2). La durée du développement sporogonique des *Plasmodium* varie en fonction des conditions climatiques : entre 9 et 20 jours pour *P. falciparum* (entre, respectivement, 30°C et 20°C), un peu plus rapide pour *P. vivax* à températures équivalentes, plus long pour *P. malariae*.

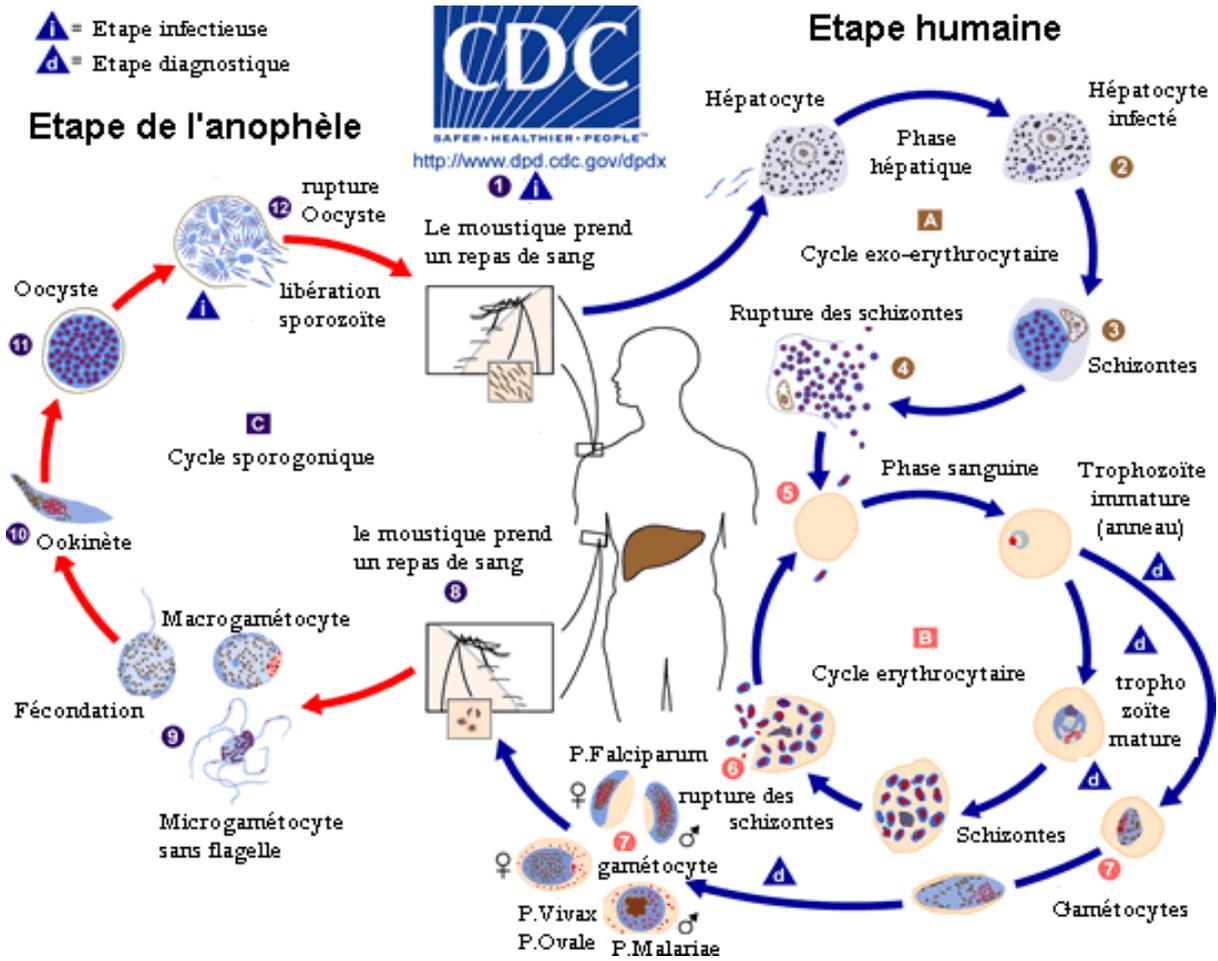


Figure 2 : Cycle évolutif de *Plasmodium* sp

Source: Center for Disease Control: <https://www.cdc.gov/dpdx>

1.3.Vecteurs du paludisme

Les moustiques constituent la plus importante famille de vecteurs d'agents pathogènes. Un vecteur n'est pas une simple seringue récupérant un agent pathogène chez un vertébré pour l'injecter à un autre. C'est un point de passage obligatoire pour la diffusion de l'agent pathogène qui va soit « simplement » s'y multiplier (virus) ou y assurer une part de son cycle biologique (Pages et al. 2007). Parmi eux figurent les anophèles, vecteurs de *Plasmodium sp*, parasites responsables du paludisme. Ces vecteurs appartiennent au règne *Animalia*, au *Phylum* des *Arthropoda*, à la classe des *Insecta*, à l'ordre des *Diptera*, à la famille des *Culicidae* et au genre *Anopheles*. Il existe 490 espèces d'anophèles mais seulement une soixantaine assure, avec plus ou moins d'efficacité, la transmission des *Plasmodium* humains dans le monde (Sinka et al. 2012; Sinka et al. 2010).

Ces vecteurs du paludisme sont classés en groupe ou complexes d'espèces. Les complexes d'espèces regroupent des espèces jumelles non différenciables à l'aide de critères morphologiques connus quel que soit leur stade. Même au sein d'un complexe, on retrouve des différences plus ou moins sensibles dans les comportements mais aussi dans les aptitudes à transmettre. En Afrique subsaharienne, les vecteurs du paludisme appartiennent majoritairement aux complexes *Anopheles gambiae* (huit espèces dont trois vecteurs principaux : *An. coluzzii*, *An. gambiae* et *An. arabiensis*), *An. funestus* (neuf espèces dont deux vectrices : *An. funestus s.s.* et *An. rivulorum*) et *An. nili* (quatre espèces dont trois vecteurs principaux : *An. nili s.s.*, *An. carnevalei* et *An. ovengensis*) (Carnevale & Robert 2009; Sinka et al. 2012).

Au Burkina Faso les vecteurs majeurs en cause dans la transmission des plasmodies humaines sont : *An. gambiae*, *An. coluzzii*, *An. arabiensis*, *An. funestus* (Robert et al. 1985; Sinka et al. 2012).

1.3.1. La morphologie et le cycle biologique des anophèles

Dans le cycle biologique des moustiques, il y a quatre stades : **l'œuf, la larve, la pupe (nymphe) et l'adulte**. Le temps pris par chaque stade pour se développer dépend de la température de l'eau et d'autres facteurs.

Œufs

Un moustique femelle ne copule généralement qu'une fois dans sa vie. Habituellement, après la copulation, elle a besoin d'un repas de sang pour faire mûrir le premier lot d'œufs. Un repas sanguin est généralement pris tous les deux jours, conduisant à la maturation du lot d'œufs

suisant. Chaque lot comporte 100 à 150 œufs qui sont déposés sur la surface de l'eau lors de la ponte. Ils possèdent des flotteurs latéraux qui leur permettent d'être maintenus à la surface de l'eau. Les sites d'oviposition sont très variables : petites quantités d'eau dans des empreintes de pas, des flaques d'eau de pluie ou collections plus grandes comme des rivières, canaux, marécages, lacs, rizières. Chaque espèce de moustique préfère une variété bien déterminée de gîtes aquatiques pour déposer ses œufs. Un moustique femelle continue à pondre pendant toute son existence. La plupart des femelles pondent 1 à 3 fois, mais certaines peuvent pondre jusqu'à 5 à 7 fois. Dans les meilleures conditions tropicales, la durée de vie des moustiques est de 3 à 4 semaines.

Larve

Une larve sort de l'œuf après un ou deux jours et flotte horizontalement sous la surface de l'eau car elle a besoin de respirer de l'air. Ce sont des stades de développement vermiformes dont le corps comporte 3 parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Elle se nourrit de particules présentes dans l'eau. Si on la dérange, elle plonge rapidement vers le fond mais elle reviendra sans tarder à la surface pour respirer. Il y a quatre stades larvaires (voir figure 3). La larve qui sort de l'œuf est appelée le **premier stade**. Après un jour ou deux, elle mue, abandonnant son enveloppe et devient ainsi le **second stade**, suivi par le **troisième stade** et le **quatrième stade**, à des intervalles d'environ deux jours chacun. La larve reste au quatrième stade de pendant trois ou quatre jours ou plus, avant de se changer en puppe. Le temps total passé au stade larvaire est généralement de huit à dix jours à la température normale de l'eau en milieu tropical. Si la température est plus basse, les stades aquatiques prendront plus de temps pour se développer.

Puppe

La puppe (nymph) est le stade pendant lequel une transformation majeure a lieu, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte. La puppe a la forme d'une virgule (voir figure 3). Elle reste sous la surface de l'eau, ne se nourrit pas et plonge au fond de l'eau si elle est dérangée. Le stade nymphal dure 2 à 3 jours après quoi la cuticule de la puppe se fend, le moustique adulte émerge et se repose temporairement à la surface de l'eau jusqu'à ce qu'il soit capable de s'envoler.

Adulte

La copulation a lieu au moins 24h aussitôt après l'émergence. (figure3). La femelle ne copule généralement qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à cette occasion assez de sperme pour féconder tous les lots d'œufs successifs. Normalement, elle ne prend son premier repas sanguin qu'après la copulation, mais parfois le premier repas sanguin peut être pris par une

femelle encore vierge. Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces), tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul repas de sang.

Les habitudes alimentaires et de repos des moustiques sont d'une grande importance dans les programmes de contrôle et pour cette raison, elles doivent être bien comprises. La plupart des espèces d'anophèles piquent la nuit. Certaines piquent juste après le coucher du soleil, d'autres piquent plus tard, aux environs de minuit ou même aux petites heures matinales. Certaines espèces entrent dans les maisons pour piquer (**endophages**), d'autres préfèrent piquer à l'extérieur (**exophages**). Après que le moustique ait pris son repas de sang, il se repose pendant une courte période. Les moustiques qui sont entrés pour piquer se reposent habituellement sur un mur, sous le mobilier ou sur des vêtements pendus dans la maison. Ils sont dits **endophiles**. Ceux qui piquent à l'extérieur se reposent habituellement sur des plantes, dans des trous, sur des arbres, sur le sol ou d'autres endroits frais et sombres sont dits **exophiles**.

Les **préférences trophiques** varient suivant les différentes espèces de moustiques (Besansky et al. 2004; Takken & Verhulst 2013). Certains préfèrent prendre du sang chez l'Homme plutôt que chez les animaux, ils sont appelés **anthropophiles**, tandis que d'autres, qui préfèrent le sang des animaux sont appelées **zoophiles**. Bien entendu, ceux qui préfèrent l'Homme sont les plus dangereux, car ils sont susceptibles de transmettre la maladie d'Homme à Homme.

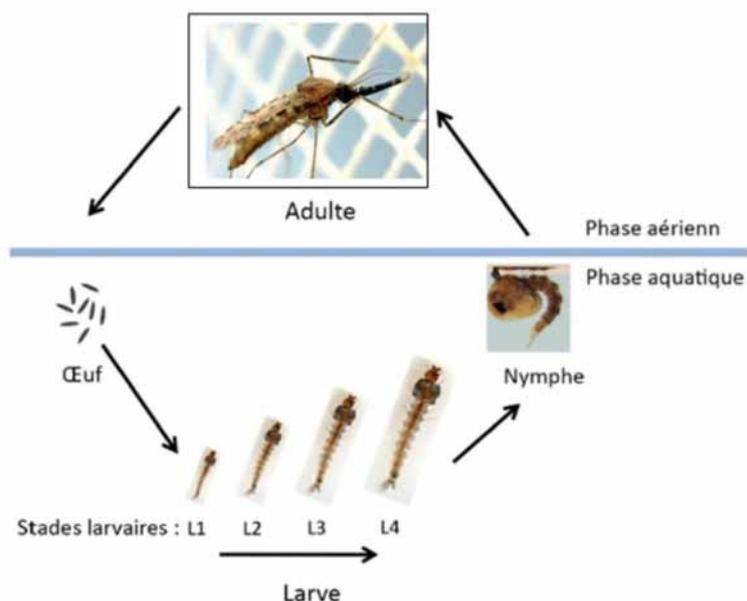


Figure 3: Différents stades du cycle biologique des anophèles (modifié d'après Williams & Pinto 2012).

1.3.2. Bioécologie

En Afrique, *An. gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis* sont les principaux vecteurs du paludisme du complexe *gambiae* et sont largement distribués géographiquement. *An. gambiae* et *An. coluzzii* sont plus fréquemment rencontrées en zone de forêt et de savane humide mais aussi dans les savanes sèches ouest-africaines s'étendant du Sénégal au Burkina Faso. Elles vivent en sympatrie dans la presque totalité des savanes afro-tropicales avec *An. arabiensis* qui se retrouve quasi seul dans les zones sahéliennes et désertiques. Les trois espèces colonisent des gîtes de reproduction souvent temporaires, généralement petits, peu profonds, ensoleillés et sans végétation. On en sait peu sur les facteurs qui affectent la survie des larves et les mécanismes qui contrôlent l'émergence des adultes. On sait cependant que les précipitations, la température, l'humidité et la saison ainsi que les prédateurs et les compétiteurs influencent la survie des larves et l'émergence des adultes. Ces espèces présentent cependant d'importantes différences dans leurs préférences en matière d'hôtes et leur comportement trophique sur tout le continent africain. A quelques exceptions près, *An. gambiae* et *An. coluzzii* sont généralement endophage et endophile; tandis qu'*An. arabiensis* montrent une plus grande variabilité de comportements (Takken & Verhulst 2013; Carnevale & Robert 2009).

1.3.3. Définition de la capacité et de la compétence vectorielle

1.3.3.1. Compétence vectorielle

La compétence vectorielle est l'aptitude du vecteur à s'infecter après un repas de sang infectieux, à assurer le développement du parasite et à le transmettre à un nouvel hôte. (Lefèvre et al. 2013). Deux traits permettent de l'estimer :

- **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).

- **L'intensité parasitaire.**

C'est le nombre moyen d'oocystes dans l'estomac, ou le nombre moyen de sporozoïtes dans les glandes salivaires, des moustiques infectés.

1.3.3.2. La capacité vectorielle

La capacité vectorielle du moustique est son aptitude à transmettre le parasite 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;
- La compétence vectorielle
- La durée du cycle sporogonique (période d'incubation extrinsèque).

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 anophèle-homme 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 pour estimer la capacité vectorielle (MacDonald 1956; Garrett-Jones & Shidrawi 1969; Smith et al. 2011).

$$C = m a^2 v p^n / R \ln p$$

C : capacité vectorielle

m : la densité de vecteur par rapport à la densité d'hôtes vertébrés;

a : le taux de piqure;

v : la compétence vectorielle;

p : la survie du vecteur; et

n : la Période d'Incubation Extrinsèque (PIE).

1.3.4. Lutte anti-vectorielle

La lutte anti-vectorielle est l'une des pierres angulaires de la lutte antipaludique et reste la mesure généralement la plus efficace pour éviter la transmission de la maladie (OMS 2016). Il s'agit donc d'une des approches stratégiques de lutte contre le paludisme et se base principalement sur l'utilisation des insecticides. Les différentes classes d'insecticides utilisées sont les Organochlorés (DDT, lindane, cyclodiènes), les Organophosphorés (parathion, malhation), les Carbamates, les Pyréthriinoïdes (deltaméthrine, lamda-cyhalothrine, perméthrine), les Régulateurs de croissance (méthoprène, pyriproxifen) et les toxines bactériennes (*Bacillus thuringiensis israelensis* (B.t.i) et *Bacillus sphaericus*)

(Carnevale & Robert 2009). Ces molécules sont utilisées pour la lutte larvaire mais surtout pour la lutte adulticide.

L'objectif de la LAV est double:

- Au niveau individuel, assurer la protection contre les piqûres infectantes de moustiques
- Au niveau de la communauté, diminuer l'intensité de la transmission locale du paludisme en réduisant la longévité, la densité des populations locales de moustiques et le contact Homme-vecteur.

1.3.4.1. Réduction du contact Homme-vecteur

1.3.4.1.1. Moustiquaires imprégnées d'insecticide (OMS 2014)

Il s'agit de moustiquaires dont la toile a été imprégnée par un insecticide. Elles ont un effet répulsif, incapacitant et/ou létal sur les moustiques qui viennent au contact du produit sur la toile. Il en existe deux catégories :

La moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII) classique qui est obtenue en plongeant le textile dans une solution d'un insecticide recommandé par l'OMS. Pour s'assurer de la persistance de l'effet insecticide, la moustiquaire doit être retraitée après tous les trois lavages ou au moins une fois par an.

La moustiquaire à imprégnation durable (MID) : elle doit conserver son efficacité biologique contre les vecteurs pendant au moins trois ans sur le terrain, dans les conditions d'utilisation recommandées, ce qui supprime le besoin des retraitements réguliers. Pour cette raison, l'OMS insiste sur l'utilisation des moustiquaires à imprégnation durable à la place des MII classiques.

Les moustiquaires imprégnées agissent *i)* en protégeant la personne qui dort en dessous (niveau individuel : protection personnelle) et *ii)* en étendant leur effet à l'ensemble d'une zone (niveau communautaire : effet de masse). La protection personnelle opère en évitant le contact entre le moustique et la personne qui se trouve sous la moustiquaire. «L'effet de masse» se produit quand l'insecticide de la moustiquaire tue les moustiques qui la touchent, ce qui a des répercussions sur la population des vecteurs et diminue l'intensité générale de la transmission dans la zone couverte. Toutefois, dans un même foyer, l'effet protecteur des moustiquaires imprégnées est plus faible pour les personnes dormant en dehors des moustiquaires que pour celles qui dorment en dessous et l'OMS recommande donc d'atteindre la « couverture universelle ». Dans le cas des moustiquaires imprégnées d'insecticide longue durée (MILD), la couverture universelle est définie de la façon suivante :

un foyer doit posséder une moustiquaire de lit imprégnée d'insecticide longue durée pour deux personnes vivant dans le foyer.

1.3.4.1.2. Autres méthodes de diminution du contact Homme-vecteur

✓ Autres matériels pouvant être traités avec des insecticides

On peut aussi traiter des rideaux et hamacs avec des insecticides pyréthrinoïdes et les utiliser pour diminuer le contact entre l'homme et le vecteur (OMS 2014). Les couvertures, toiles de tentes et tentes en plastique imprégnés de pyréthrinoïdes sont autant de moyens potentiels pour se protéger du paludisme; bien que des données généralisables soient limitées, on peut les utiliser dans certaines circonstances, comme dans les camps de réfugiés (OMS 2014). Les rideaux aux portes et aux fenêtres pourraient être un complément utile aux MII dans les zones où le taux de piqûres par les vecteurs est particulièrement élevé en début de soirée, avant que les gens n'aillent se coucher, à la condition qu'ils se trouvent à l'intérieur à ce moment-là.

✓ Répulsifs, spirales anti-moustiques et vêtements protecteurs

L'utilisation de répulsifs et de vêtements protecteurs est utile pour les personnes se trouvant dehors au moment du pic d'activité des vecteurs. La plupart des produits répulsifs ont une durée d'action très limitée.

Répulsifs: Ils existent sous forme de crèmes, de lotions et d'aérosols. Selon les produits, on peut les appliquer soit directement sur la peau, soit sur les vêtements. Ils constituent une mesure de protection individuelle qui complète les MII/MID et la protection des maisons. Ils peuvent être utilisés après la tombée de la nuit avant de se retirer sous une moustiquaire ou par ceux qui doivent rester dehors pendant une partie de la nuit. Lors des épidémies, on a parfois distribué des répulsifs pour lutter contre le paludisme, bien que le rapport coût/efficacité de cette mesure soit incertain (OMS 2014; Pages et al. 2007; Carnevale & Robert 2009).

Spirales et diffuseurs anti-moustiques : Certains insecticides tuent ou repoussent les moustiques à distance par effet aérien lorsqu'ils sont vaporisés au moyen d'un dispositif de chauffage. Les spirales anti-moustiques font partie des vaporisateurs d'insecticide les plus populaires et les plus largement utilisés. Quand elles sont allumées, elles libèrent régulièrement de l'insecticide dans l'air pendant six à huit heures (OMS 2014).

Vêtements protecteurs

Les vêtements recouvrant la plus grande partie du corps, c'est-à-dire des vestes et chemises à manches longues, des pantalons et des chaussettes, assurent un certain niveau de protection individuelle contre les piqûres de moustiques (OMS 2014).

1.3.4.2. Lutte contre les moustiques adultes

✓ *Pulvérisations intra-domiciliaires à effet rémanent (PID)*

Elles consistent à appliquer des insecticides à effet rémanent sur les surfaces intérieures des habitations, où de nombreuses espèces vectrices d'anophèles se reposent après avoir pris un repas de sang. Elles ont pour principal effet de tuer les moustiques qui ont pénétré dans les maisons et se reposent sur les surfaces traitées. Elles ne sont donc pas utiles pour lutter contre les vecteurs qui ont tendance à se reposer à l'extérieur, bien qu'elles puissent être efficaces contre des moustiques qui piquent à l'extérieur et entrent ensuite dans les maisons pour se reposer après s'être nourris. Si elles sont appliquées correctement, les PID sont une intervention très efficace qui protège les communautés par un effet de masse rapide sur les populations de vecteurs en réduisant leur densité, leur longévité et donc leur « capacité vectorielle » pour la transmission des plasmodies (OMS 2014; Carnevale & Robert 2009).

✓ *Pulvérisations spatiales*

La pulvérisation spatiale, techniquement parlant une nébulisation ou un brouillard (qu'on appelle parfois aérosol), consiste à disperser un insecticide dans l'air sous forme de centaines de millions de minuscules gouttelettes de diamètre inférieur à 50 µm. Elle consiste à détruire les moustiques en vol par contact avec l'insecticide en suspension dans l'air. L'objectif principal est de réduire aussi vite que possible la densité des vecteurs en augmentant leur mortalité. Son emploi est limité dans le cadre de la lutte antipaludique et on n'utilise les pulvérisations spatiales que comme méthode complémentaire de lutte anti-vectorielle dans certaines situations bien précises, surtout conjointement au traitement de masse des fièvres (OMS 2014). Les pulvérisations spatiales ont rencontré un certain succès dans la lutte contre les épidémies de paludisme ou sur des vecteurs très exophiles, comme *An. dirus* dans les camps de réfugiés en Thaïlande et *An. nuneztovari* en République bolivarienne du Venezuela. Elles ont été utilisées dans la lutte d'urgence contre des épidémies (en phase ascendante) et lorsque des données probantes suffisantes indiquent que le facteur déterminant est une densité de vecteurs anormalement élevée (OMS 2014).

La pulvérisation spatiale est conçue pour :

- paralyser rapidement les moustiques (« knock-down »),
- induire rapidement la mortalité, et
- être une méthode rapide de lutte en situation d'épidémie et d'urgence.

1.3.4.3. Lutte contre les larves

Elle n'est indiquée comme seule méthode de lutte anti-vectorielle que si la majorité des gîtes larvaires à anophèles qui se trouvent dans le rayon de vol des vecteurs par rapport à la communauté à protéger sont peu nombreux, fixes, localisables et traitables (OMS 2014). La lutte contre les larves peut également compléter les effets d'autres interventions essentielles de lutte (MID et PID). Elle n'affecte que la densité des vecteurs et nécessite une couverture élevée pour être efficace. On n'attend de la lutte larvicide qu'une diminution proportionnelle de la capacité vectorielle par la réduction de la densité anophélienne (m), alors qu'en raccourcissant la survie des adultes (p) et leur densité m (en utilisant les pulvérisations à effet rémanent) on obtient une diminution bien plus grande de la capacité vectorielle. Les principales méthodes de lutte contre les larves comprennent les traitements larvicides, l'utilisation de poissons larvivores et l'élimination des gîtes larvaires (OMS 2014).

La lutte contre les larves peut être utile dans les conditions suivantes (OMS 2014) :

- Dans les zones densément peuplées présentant des gîtes larvaires fixes et localisables en nombre relativement limité, par exemple dans les bourgs et les villes ;
- Dans les zones où les gîtes larvaires sont faciles à localiser et ne sont pas étendus, par exemple les hauts plateaux, les marges de déserts, dans les zones d'endémie pendant les périodes très sèches, lorsque les gîtes larvaires sont en nombre très limité, faciles à délimiter et traitables ;
- Dans les camps de réfugiés ;
- Dans les zones de développement, comme des programmes d'irrigation à petite échelle et des sites en construction.

1.3.4.4. La lutte génétique

La lutte génétique a pour but ultime la suppression ou la réduction de la densité des populations de moustiques par modification de leur patrimoine génétique ou par leur autodestruction (Pages et al. 2007). Cette lutte est basée sur l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés (Beech et al. 2012), de moustiques transgéniques réfractaires à l'infection parasitaire (Catteruccia et al. 2000) et aussi l'utilisation de la TIS (Townson 2009; Klassen 2009). Cette dernière concerne essentiellement le lâcher de mâles stériles dans certaines régions bien délimitées (Pages et al. 2007). Elle a fait ses preuves de par le passé dans le contrôle de plusieurs nuisances causées par des mouches et semble aujourd'hui présenter une alternative prometteuse pour lutter plus efficacement contre les maladies infectieuses transmises par les moustiques (Boyer 2012). Elle consiste à stériliser les mâles

de moustiques à partir de l'irradiation par des agents ionisants (rayons gamma ou X) ou des produits chimiques (chimio stérilisation) (Helinski et al. 2009; Knipling et al. 1968). De ces agents stérilisants, les rayons gamma sont les plus utilisés dans la technique de la TIS et les sources de rayons gamma sont principalement les radio-isotopes de Cobalt 60 et le Césium 137. La mise en œuvre de la TIS nécessite plusieurs conditions :

L'élevage en masse : l'objectif est de produire des centaines de milliers de moustiques en laboratoire.

Le sexage : puisque ce sont les femelles qui piquent, seuls les mâles seront lâchés. La séparation des mâles et des femelles se fait généralement de manière mécanique au stade de nymphes, à l'issue de leur développement larvaire.

La stérilisation : les mâles (au stade nymphale ou adulte) sont stérilisés par irradiation aux rayons gamma ou les autres agents stérilisant. Cette stérilisation, tout en affectant les cellules reproductrices des mâles provoque leur stérilité mais doit préserver leur vigueur et leur performance sexuelle.

Le lâcher : les mâles stériles sont lâchés dans la nature en quantité 5 à 10 fois supérieure à celle des mâles sauvages. Il suffit d'un seul accouplement d'un moustique femelle avec un mâle stérile pour réduire sa fertilité puisqu'elle stocke le sperme du premier mâle qui l'a fécondée pour concevoir tous ses œufs durant toute sa vie (un mois environ).

En offrant une alternative aux pulvérisations d'insecticide, la TIS présente de très nombreux avantages par rapport aux méthodes de lutte anti-vectorielle « traditionnelles » :

- Elle est potentiellement très efficace puisque parfaitement adaptée à la biologie du moustique, autrement le moustique est directement exposé à l'irradiation qui agit sur ses cellules reproductrices en le rendant stérile. Il devient impossible d'assurer la division cellulaire nécessaire faisant suite à la fécondation des ovules, donc au développement des embryons.
- La technique d'irradiation induit une stérilité uniquement sur les moustiques exposés en laboratoire aux agents stérilisants, sans aucun risque de propagation de ce caractère de stérilité à d'autres moustiques ou dans le milieu naturel;
- Elle devrait permettre à terme de s'affranchir du recours aux insecticides et donc de limiter considérablement les effets de ces produits sur l'homme et l'environnement (effets non intentionnels sur la faune, pollution, développement des résistances, ...);

- Elle constitue donc une méthode de lutte anti-vectorielle innovante qui présente des perspectives de développement très encourageantes en complément aux outils de lutte plus conventionnels.

2. Méthodologie

2.1. Type et période de l'étude

Il s'agit d'une étude fondamentale qui a porté sur l'effet de l'irradiation sur la compétence vectorielle des femelles d'*An. arabiensis* et qui s'est déroulée de septembre 2015 à décembre 2016.

2.2. Matériels et méthode

2.2.1. Matériels

2.2.1.1. Matériel biologique

- Nymphes provenant de la colonie d'*An. arabiensis* de l'insectarium de l'IRSS établie en 2015 ;
- Nymphes provenant de larves collectées à Dioulassoba
- Nymphes provenant de femelles capturées à Soumousso
- Isolats naturels de *P. falciparum* collectés au sein de la population de Dandé et de Soumousso

2.2.1.2. Matériels d'élevage

- Cages (adultes)
- Bacs (stades immatures)
- Pipettes
- Aspirateurs à bouche
- Gobelets plastiques
- Tetramin® (aliment pour les larves)
- Glucose 5% pour les adultes destinés à la compétence et 2,5% pour les adultes destinés à la longévité.

2.2.1.3. Matériel d'irradiation

L'appareil qui a servi à irradiation se trouve au Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Sub-humide (CIRDES).

2.2.1.4. Matériels de l'infection expérimentale

Le dispositif de l'infection expérimentale (un système de cellules de gorgement maintenu à 37°C par un bain-marie) se trouve à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) de Bobo Dioulasso.

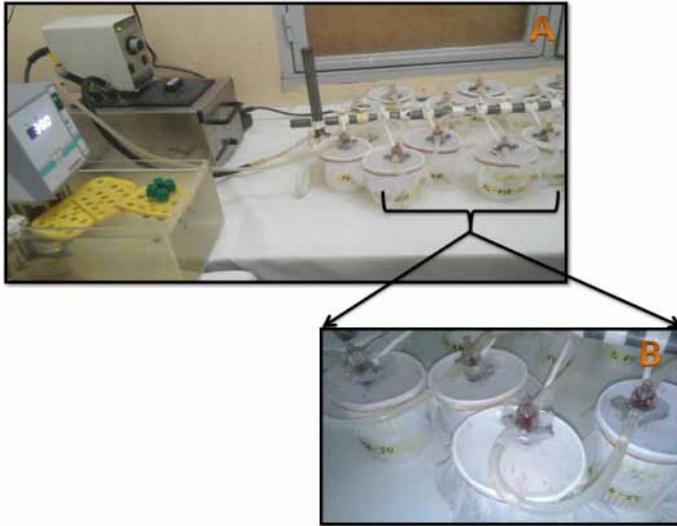


Figure 4 : Rampe d'infection expérimentale : (A) Dispositif complet, avec le bain marie, les cellules de gorgement et (B) les cellules de gorgement et les gobelets en dessous avec des moustiques (Hien 2016)

2.2.1.5 Matériels des gouttes épaisses et de la dissection

- Lames
- Giemsa 10%
- Loupe binoculaire
- Microscope
- Mercurochrome 2%
- Pincettes de dissection
- Fiches de dissection

2.2.2. Méthode

2.2.2.1. Elevage des moustiques

Une souche locale d'*Anopheles arabiensis* a été utilisée comme hôte vecteur dans notre étude. Cette lignée a été colonisée et maintenue en élevage dans l'insectarium de l'IRSS à partir des femelles collectées dans la localité de Dioulassoba depuis 2015. Des études précédentes ont prouvé que la majeure partie des moustiques en provenance de cette zone sont des *An. arabiensis* (Dabiré et al. 2014; Nguyen et al. 2017).

Les femelles maintenues en cages et nourries sur lapin et avec du glucose 5%, pondent sur des boîtes de Pétri contenant du coton humide recouvert de papier filtre. Les pontes, collectées au deuxième jour après les repas de sang, éclosent dans un bac contenant de l'eau de robinet. Les larves de stade I issues de l'éclosion sont nourries quotidiennement avec de l'aliment conçu

pour les poissons d'aquarium (TetraMinBaby®). Dans les conditions standards d'insectarium ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ de température, $70 \pm 10\%$ d'humidité relative et une alternance jour/nuit de 12h), elles évoluent progressivement par mue en larves de stade II, III pour donner des larves de stade IV au bout de 10 jours environ. Les nymphes résultant des larves de stade IV sont réparties en lots d'environ 200 individus dans des gobelets (45mm de diamètre et 85mm de hauteur) remplis d'eau. Ces gobelets sont disposés dans des cages cubiques à cadre métallique de 30 cm d'arrête, recouvertes de tulle moustiquaire à mailles fines. L'émergence survient 24 à 48 heures plus tard et les imagos libérés sont nourris avec une solution de glucose 5%. Le stade nymphal a été utilisé pour l'irradiation dans notre étude.

Des nymphes issues de femelles d'*Anopheles arabiensis* de la localité de Soumouso ont été également utilisées.

2.2.2.2. Irradiation

Les nymphes ont été pipetées et mis dans deux gobelets (45mm de diamètre et 85mm de hauteur) en plastique transparent au même nombre (entre 50 et 200) tout en ajoutant un peu d'eau (au un tiers du gobelet). Un des gobelets fut étiqueté I+ pour le lot à irradier et l'autre I- pour le lot non irradié (témoin). Les gobelets contenant les nymphes ont été placés dans un bac, couvert par un tissu moustiquaire neutre et transportés en véhicule au CIRDES pour l'irradiation. Arrivé sur le site, la quantité d'eau a été réduite au même niveau (1cm environ). Les pupes ont été irradiées à une dose d'environ 70Gy dans une source gamma autonome de Gamma Cell 137Cs (césium) à une dose de 3Gy / min pendant 23 minutes. Cette dose est celle qui permet le meilleur compromis stérilité-compétitivité des mâles d'*An. arabiensis* (Helinski et al. 2006). Après irradiation, de l'eau a été rajoutée au un tiers dans les gobelets contenant les nymphes. Ils ont été placés chacun dans un bac et protégé par un tissu moustiquaire neutre et ramenés en véhicule à l'insectarium de l'IRSS où ils ont été placés dans des cages séparées de 30cm × 30cm × 30cm et étiquetées I- (contrôle) et I+ (irradiés). Du coton imbibé d'une solution de glucose 5% a été déposé sur chaque cage comme source d'énergie pour l'émergence des moustiques adultes. Après l'émergence, mâle et femelle ont été maintenus ensemble de telle sorte qu'ils puissent s'accoupler pendant x jours. Entre trois et six jours après émergence, les femelles ont été aspirées et mises dans des gobelets en carton de 75mm de diamètre et 100mm de hauteur (environ 50 moustiques par gobelet) et un repas de sang infectieux ou non leur a été proposé (cf. la figure 5 ci-dessous).

2.2.2.3. Sélection des porteurs de gamétocytes et infection expérimentale

Des enquêtes parasitologiques ont été réalisées en collaboration avec l'équipe médicale en charge du traitement du paludisme au centre de santé local des villages de Soumousso (11°00'46''N, 4°02'45''W) et Dande (11°34'59''N, 4°33'25''W). Ces villages sont situés respectivement à 30 km au Nord-Est et à 60 km au Nord-Ouest de Bobo Dioulasso au sud-ouest du Burkina Faso. Les porteurs de gamétocytes de *P. falciparum* ont été recrutés parmi des populations d'enfants de 5-12 ans dans ces deux villages. Des gouttes épaisses (figure 5) ont été réalisées sur chaque volontaire, colorées au Giemsa 10% pendant 10 minutes et séchées à l'air. Ces lames ont été examinées par microscopie (figure 5) pour la détection et l'identification de *P. falciparum* au laboratoire de l'IRSS à Bobo Dioulasso. Pour les cas d'infection, les densités parasitaires et de gamétocytemies ont été estimées sur la base du nombre de trophozoïtes ou de gamétocytes comptés pour respectivement 100 ou 1 000 leucocytes. En assumant le nombre de leucocytes à 8 000 par microlitre de sang, la densité parasitaire ou gamétocytaire absolue (nombre/ μ l de sang) a été déduite par les formules : **Parasitémie = 8 000 x nombre de trophozoïtes / 1 000; Gamétocytemie = 8 000 x nombre de gamétocytes / 1 000**. Les enfants atteints de parasitémie de plus de 1 000 parasites par microlitre de sang ont été traités conformément aux lignes directives nationales et les enfants asymptomatiques positifs pour les gamétocytes de *P. falciparum* ont été recrutés. Pour notre étude, les infections de moustiques ont été effectuées par gorgement sur membrane (Vantaux et al. 2014; Roux et al. 2015). Le sang du porteur de gamétocyte a été prélevé par ponction veineuse dans des tubes héparinés de 4 ml.

Les femelles de moustiques (figure 5) ont été exposées au repas de sang infectieux pendant une heure. Ce sang a été distribué à l'aide d'une micropipette dans les cellules de gorgement (500 μ l par cellule) maintenue à une température de 37°C grâce à de l'eau circulant continuellement à travers des tuyaux reliés à un bain-marie thermostaté (voir figure 5). Les moustiques ont été privés de solution de glucose pendant 24 h avant l'infection afin d'optimiser le taux de gorgement. Les femelles non gorgées ou partiellement gorgées ont été écartées, alors que les moustiques complètement gorgés restants ont été maintenus à l'insectarium dans les mêmes conditions standards (27 \pm 2 ° C, 70 \pm 5% d'humidité relative et une alternance jour-nuit 12:12) et nourries quotidiennement à l'aide de coton imprégné d'une solution de glucose 5%.



Figure 5 : Les différentes étapes de l'infection expérimentale avec des isolats de *P. falciparum* d'après (Hien 2016)

2.2.2.4. Traits mesurés

2.2.2.4.1. Taux d'émergence

C'est le nombre de nymphes arrivant au stade adulte sur le nombre total de nymphes au sein de chaque groupe (irradié et non-irradié). Il a été mesuré 24-48 heures après l'irradiation.

2.2.2.4.2. Taux de gorgement

Une fois le gorgement fini, les moustiques ont été replacés dans des cages où on a procédé au tri et au dénombrement des non gorgés. Le taux de gorgement est le nombre de moustiques femelles gorgés sur l'ensemble des moustiques femelles exposés au repas de sang infectieux. Les gorgés ont été maintenus dans les cages et nourris au glucose 5%.

2.2.2.4.3. Compétence vectorielle

- **Oocystes à J7**

Sept jours post-infection les estomacs des moustiques (381 irradiés et 376 contrôles gorgés sur le sang de 8 porteurs (A, C, D, E, G, H, I, et J)) ont été disséqués. Cette dissection s'effectuait sous une loupe binoculaire, à l'aide de pinces Dumont n°5 dans du mercurochrome 2%. Le moustique était maintenu par une pince au niveau du thorax puis étiré

à l'aide d'une seconde pince placée au niveau de l'avant dernier segment abdominal. L'exosquelette en se déchirant entraîne l'estomac hors de l'abdomen. Celui-ci est délicatement détaché aux deux extrémités et placé entre lame et lamelle, puis est examiné au microscope aux grossissements x10 à x40 pour la détection et le comptage des oocystes.



Estomac dans du mercurochrome 2%

Figure 6 : Détection microscopique d'oocystes dans l'estomac du moustique d'après (Hien 2016)

- **Sporozoites à J14**

14 jours post-infection, la dissection de la tête et du thorax nous renseignait sur la présence des stades sporozoïtes transmissibles. Celle-ci se faisait avec deux pinces également et de la même manière que précédemment mais cette fois-ci l'abdomen est pincé et tiré au niveau du premier segment, ensuite les têtes et les thorax sont stockés dans un tube 1,5ml et gardé à -20°C pour un diagnostic moléculaire (qPCR). Ce trait a été mesuré en disséquant 264 irradiés et 316 contrôles ayant gorgés sur le sang de quatre porteurs (E, H, I et J).

Extraction de l'ADN de *Plasmodium falciparum*

L'Acide Désoxyribo Nucléique (ADN) des têtes et thorax a été extrait par le Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide 2% (CTAB 2%). Chaque tête et thorax a été broyé dans 200 µl une solution de 2% de CTAB, ce qui permet l'inactivation des nucléases cellulaires. La lyse cellulaire est accentuée en mettant les broyats de moustiques 5 minutes dans un Bain-Marie à 65°C. Le solvant et le CTAB 2% qui ont été utilisés ici servaient à éliminer les contaminants d'acides nucléiques. Ensuite, 200µl de chloroforme étaient ajoutés à chaque broyat et mélangés par inversion, puis centrifugés 5 minutes à 12 000 rotations par minute (rpm) afin de séparer l'acide nucléique recherché des débris cellulaires et des protéines. L'acide

nucléique recherché se trouvait dans le surnageant. Ce surnageant était prélevé, puis mis dans un autre tube eppendorf de 1,5ml avec les mêmes références inscrites que sur le tube du broyat. Dans le tube contenant le surnageant, 200µl d'iso-propanol étaient ajoutés puis mélangés par inversion et centrifugés 15 minutes à 12 000 rpm. Le rôle de l'iso-propanol était de concentrer l'acide nucléique par précipitation. Après centrifugation, le mélange surnageant- iso-propanol était vidé et le tube égoutté sur du papier essuie-tout. Ensuite, 200 µl d'éthanol 70% étaient ajoutés dans le tube pour centrifugation pendant 5 minutes à 12 000 rpm, afin de permettre la purification ou élution supplémentaire des sels résiduels. Après, l'éthanol 70% étaient vidés du tube et le culot séché 5 minutes maximum au speed-vac. Enfin, l'ADN était récupéré dans 20 µl d'eau ultra pure et laissé en suspension sur la paillasse toute la nuit avant d'être stocké à -20°C. La conservation de l'ADN à -20°C nous permettait de ne pas dégrader les structures et les propriétés chimiques de l'ADN. L'ADN obtenu nous a permis de quantifier les sporozoïtes par l'utilisation de la PCR quantitative (Hien 2016).

La PCR quantitative

La quantification des sporozoïtes dans les glandes salivaires des moustiques infectés a été réalisée par la PCR en temps réel en utilisant le système standard d'un appareil nommé «Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems». Pour la quantification des sporozoïtes, nous avons visé le gène mitochondrial qui code pour le cytochrome C d'Oxydase (Cox1). Les séquences des amorces utilisées sont : qPCR-PfF 5'-TTACATCAGGAATGTTATTGC-3' et qPCR-PfR 5'-ATATTGGATCTCCTGCAAAT-3'. La réaction d'un échantillon se produit dans un volume total de 10µL contenant 1µL d'ADN (~40ng/µL); 4,6µL d'eau; 2µL de 1x HOT Pol EvaGreen qPCR Mix Plus ROX et 1,2µL de chaque amorce à 5µM. L'amplification commence par une étape d'activation à une température de 95°C pendant 15min et 40 cycles de dénaturation à 95°C à 15s , renaturation / extension à 58°C pendant 30s. La détection était faite au cours de la dernière étape (Boissière et al. 2013).

2.2.2.4.4. Survie post infection des moustiques dans les grandes cages destinées à la compétence

La survie a été enregistrée dans les grandes cages (30x30x30 cm) destinées à la dissection pour la compétence. Pour chaque réplique, on avait deux grandes cages pour chaque porteur (une étiquetée Γ^+ pour les femelles irradiées exposées au sang infectieux et l'autre Γ^- pour les femelles non irradiées exposées au sang infectieux). Dans un premier temps nous avons

effectué la mortalité de J1 post infection jusqu'à J7 (jour de dissection pour la compétence en oocystes) pour les porteurs C, D, E, G, H, I, J. Ensuite la mortalité de J8 à J18 post-infection (dissection pour la compétence en sporozoïtes) a été réalisée pour les porteurs E, H, I, J. La suivie de mortalité dans les deux cas consistait à compter quotidiennement les morts de chaque groupe et à les retirer des cages.

2.2.2.4.5. La longévité absolue des moustiques

Il s'agit ici d'estimer (i) les effets de l'irradiation sur la longévité des adultes (est-ce que les femelles irradiées vivent moins longtemps que les contrôles ?), (ii) les effets de l'infection sur la longévité (est-ce que les femelles infectées vivent moins longtemps que les femelles saines ?) et les effets combinés de l'irradiation et de l'infection sur la longévité. Pour cela, quatre groupes de moustiques ont été utilisés :

- Premièrement, des femelles irradiées ayant reçu un repas de sang infectieux ;
- Deuxièmement des femelles irradiées ayant reçu un repas de sang non infectieux (le sang non infectieux a seulement été utilisé dans la mesure de la longévité) ;
- Troisièmement des femelles non irradiées ayant reçu du sang infectieux ;
- Et enfin quatrièmement des femelles non irradiées soumises à du sang non infectieux.

Pour chaque groupe, entre 40 et 60 femelles ont été placées dans des cages de 20x20x20 cm et pour éviter un possible effet cage, nous avons utilisé deux cages par groupe et les morts ont été comptés et retirés toutes les 24 heures pour évaluer leur longévité. Les femelles ont été nourries avec une solution de glucose 2,5% tous les deux jours et de l'eau tous les jours. Ces moustiques morts ont été récupérés dans des microtubes étiquetés, conservés à -20°C et ont été passés en qPCR afin de déterminer leur statut d'infection.

2.2.2.4.6. Présence des œufs

Il s'agissait de mesurer la capacité des femelles irradiées ou non à pondre des œufs. Trois jours après émergence, un lot de femelles irradiées et un lot de femelles contrôles ont été nourries deux fois sur lapin avec un intervalle de deux jours et seules les femelles ayant réussi ces deux repas de sang ont été mises en ponte individuelle dans des gobelets (diamètre=75mm, hauteur=100mm) contenant de l'eau. Le taux de ponte a été estimé en faisant le rapport du nombre de femelles ayant pondues sur le nombre total de femelles dans chaque groupe.

2.2.2.5. Analyses statistiques

Les résultats ont été saisis sous Excel version 2010 et toutes les analyses statistiques ont été effectuées sous R (version 2.15.3). La régression logistique par des modèles linéaires mixtes généralisés (GLMM, binomial errors, logit link; lme4 package) a été utilisé pour tester l'effet de l'irradiation sur (i) le taux d'émergence des moustiques, (ii) le taux de gorgement des moustiques, (iii) la prévalence des oocystes et des sporozoïtes et (iv) la présence des œufs. Des GLMMs avec des erreurs binomiales négatives (glmmADMB package) ont été utilisés pour tester l'effet de l'irradiation sur le nombre d'oocystes. Pour ces GLMMs, les modèles complets comprenaient le traitement par irradiation et la gamétocytemie comme effets fixes et la réplique et le porteur de gamétocyte comme effets aléatoires. Des analyses de survie mixtes (coxme package) ont été utilisées pour étudier l'effet de l'irradiation et de l'infection sur la survie quotidienne des moustiques. Les cages ont été considérées comme un effet aléatoire.

2.2.2.6. Considérations éthiques

La sélection des porteurs de gamétocytes a été faite dans une population asymptomatique d'enfants de 5-12 ans des villages de Dandé et Soumousso selon le protocole approuvé par le comité d'éthique institutionnel du Centre Muraz/IRSS (A003-2012/CE-CM). Avant l'inclusion, un consentement éclairé a été remis à chaque volontaire et/ou à leur tuteur ou tutrice légal. Le protocole a été en conformité avec la déclaration d'Helsinki de 2002 sur les principes éthiques pour la recherche médicale impliquant des sujets humains.

3. Résultats

3.1. Taux d'émergence

Un total de 13 528 nymphes d'*An. arabiensis* a été utilisé au cours de cette étude (6764 irradiées et 6764 contrôle). La moyenne (\pm erreur standard, se) du taux d'émergence des irradiées et des contrôles était respectivement de $0,931 \pm 0,0057$ et $0,933 \pm 0,0054$. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre le taux d'émergence du groupe irradié et du groupe contrôle ($LRT X^2_1 = 2,24$; $P = 0,13$; Figure 7).

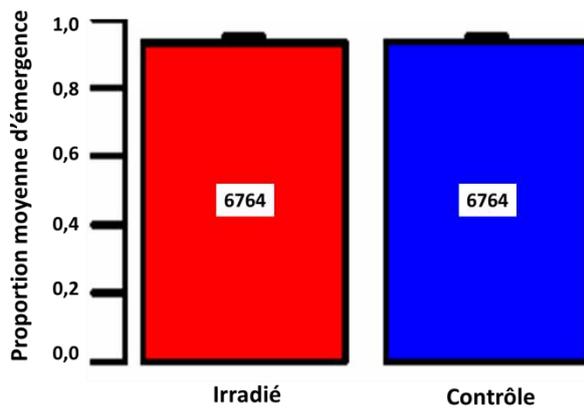


Figure 7 : Proportion moyenne d'émergence (\pm se) des nymphes irradiées (rouge) et des contrôles (bleu). Les chiffres à l'intérieur des barres indiquent le nombre total de nymphes utilisées pour chaque groupe.

3.2. Taux de gorgement

La moyenne (\pm se) du taux de gorgement des irradiées et des contrôles était respectivement de $0,51 \pm 0,07$ et $0,51 \pm 0,08$. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre le taux de gorgement des deux groupes ($LRT X^2_1 = 0,08$; $P = 0,78$, Figure 8).

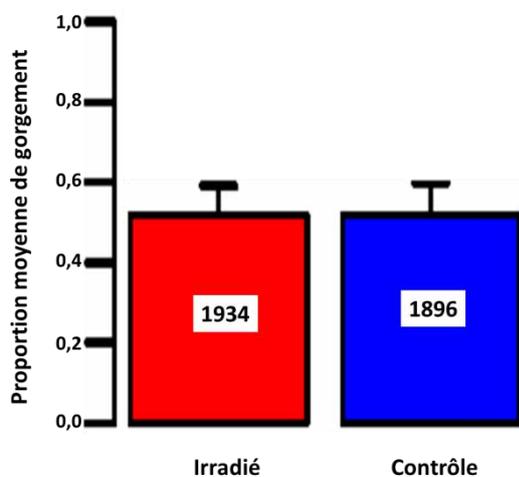


Figure 8 : Proportion moyenne de gorgement (\pm se) des femelles irradiées et contrôles. Les chiffres à l'intérieur des barres indiquent le nombre total de femelles exposées au sang infectieux pour chaque groupe.

3.3. Compétence des femelles irradiées et contrôles

Nous avons réalisé sept répliques avec huit porteurs de gamétocytes différents. (Voir le résumé dans le tableau 1).

Tableau I : Effet de l'irradiation sur la compétence d'*An. arabiensis* pour *P. falciparum*.

Moustique	Porteur*	Prévalence en oocystes (\pm IC)		Intensité sans les zéros (\pm se)		Intensité avec les zéros (\pm se)		Prévalence en sporozoïtes (\pm IC)	
		contrôle	Irradié	Contrôle	Irradié	Contrôle	Irradié	contrôle	Irradié
labo	A (64)	0,5 \pm 0,13 (52)	0,51 \pm 0,15 (41)	7,92 \pm 1,36 (26)	4,29 \pm 1,06 (21)	3,96 \pm 0,87 (52)	2,2 \pm 0,64 (41)	NA	NA
labo	B (440)	NA	NA	34 \pm 10,39 (12)	31,68 \pm 6,03 (25)	NA	NA	NA	NA
terrain	C (160)	0,78 \pm 0,24 (23)	0,57 \pm 0,18 (30)	24,28 \pm 4,89 (18)	29,12 \pm 6,84 (17)	19 \pm 4,36 (23)	16,5 \pm 4,67 (30)	NA	NA
terrain	D (88)	0,62 \pm 0,18 (55)	0,21 \pm 0,1 (68)	4,65 \pm 1,06 (34)	5,93 \pm 1,67 (14)	2,87 \pm 0,72 (55)	1,22 \pm 0,44 (68)	NA	NA
terrain	E (32)	0,33 \pm 0,11 (66)	0,34 \pm 0,11 (71)	1,55 \pm 0,21 (22)	1,46 \pm 0,15 (24)	0,52 \pm 0,11 (66)	0,49 \pm 0,1 (71)	0,45 \pm 0,13(60)	0,54 \pm 0,13(65)
terrain	G (48)	0,46 \pm 0,17(30)	0,24 \pm 0,18(21)	5,93 \pm 0,97(14)	4,2 \pm 1,68 (5)	2,76 \pm 0,71(30)	1 \pm 0,54(21)	NA	NA
terrain	H (56)	0,26 \pm 0,12(50)	0,36 \pm 0,13(50)	2,53 \pm 0,51(13)	1,33 \pm 0,16(18)	0,66 \pm 0,20 (50)	0,48 \pm 0,11(50)	0,45 \pm 0,12(60)	0,59 \pm 0,15(39)
terrain	I (48)	0,74 \pm 0,12(50)	0,62 \pm 0,13(50)	4,59 \pm 0,75 (37)	4,512 \pm 0,73 (31)	3,4 \pm 0,62 (50)	2,8 \pm 0,55(50)	0,73 \pm 0,09(80)	0,66 \pm 0,13(48)
terrain	J (32)	0,31 \pm 0,12(50)	0,42 \pm 0,13(50)	2,06 \pm 0,42(16)	2,54 \pm 0,56(22)	0,63 \pm 0,18 (50)	1,07 \pm 0,29(50)	0,35 \pm 0,12(116)	0,37 \pm 0,13(112)
TOTAL		45\pm0.04(376)	35\pm0.05(381)	8.13\pm1.05(192)	9.81\pm1.39(177)	3.91\pm0.54(376)	4.04\pm0.62(381)	0.51\pm0.06(316)	0.53\pm0.07(264)

* Les différentes lettres capitales indiquent les différents porteurs. Les chiffres entre parenthèses à côté des lettres indiquent la gamétocytemie en nombre de gamétocytes/ul de sang. La prévalence représente la proportion de femelles infectées (au moins un oocyste dans l'estomac) sur le nombre total de femelles disséquées (\pm 95% IC). L'intensité stricte (sans considérer les estomacs avec zéro oocyste) représente le nombre moyen d'oocystes par estomac infecté (\pm se). L'intensité au sens large (en considérant les estomacs infectés et non infectés) représente le nombre moyen d'oocystes pour l'ensemble des femelles disséquées (\pm se). Les parenthèses au niveau de la prévalence et de l'intensité avec les zéros représentent le nombre total de femelles disséquées pour chaque réplique et porteur. Les parenthèses de l'intensité stricte représentent le nombre total de femelles infectées et les NA indiquent l'absence de donnée.

3.3.1. Prévalence en oocyste

La prévalence en oocyste ($\pm 95\%$, IC (intervalle de confiance)) était significativement réduite chez les femelles irradiées ($0,35 \pm 0,05$) comparativement au femelles contrôles ($0,45 \pm 0,04$) ($LRT X^2_1 = 5,2$; $P = 0,02$, tableau 1, Figure 9). Par contre il n'y avait pas d'effet significatif de la gamétocytemie sur la prévalence en oocyste ($LRT X^2_1 = 2,7$; $P = 0,09$).

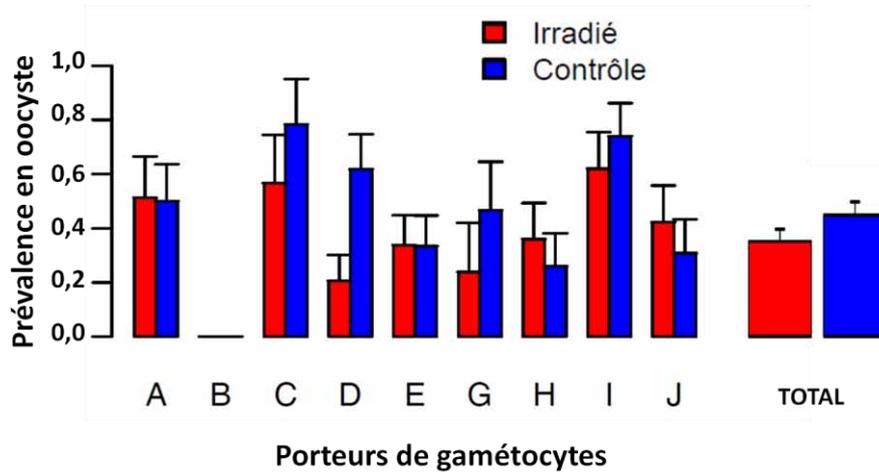


Figure 9 : Prévalence ($\pm 95\%$ IC) en oocyste des groupes irradié et contrôle. Chaque lettre capitale représente un porteur de gamécyte ($n=8$). (NB : La prévalence en oocyste n'a pas été mesurée pour le porteur B à cause d'une erreur de manipulation.)

3.3.2. Intensité en oocyste

A l'opposé de la prévalence en oocyste, l'intensité stricte en oocyste (nombre moyen d'oocystes dans l'estomac des femelles infectées) n'était pas affectée par l'irradiation ($LRT X^2_1 = 0,88$; $P = 0,34$ Tableau 1, figure 10). Il existait un effet statistiquement significatif de la gamétocytemie sur l'intensité en oocyste. ($LRT X^2_1 = 9$; $P = 0,003$).

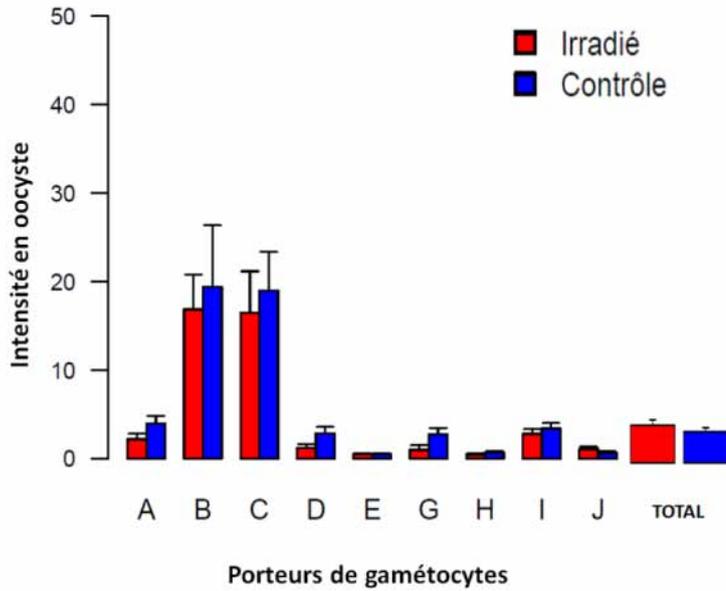


Figure 10 : Intensité moyenne (\pm se) en oocyste dans les deux groupes, irradié et contrôle.

3.3.3. Survie des moustiques entre 1-7 jours post-infection dans les grandes cages de la compétence en oocyste

Il n'y avait pas de différence de survie entre les femelles irradiées et contrôles ($LRT \chi^2_1 = 1,48$; $P = 0,22$, Figure 11). Le taux de survie des irradiées et des contrôles était respectivement de $0,95 \pm 0,02$ et $0,93 \pm 0,03$.

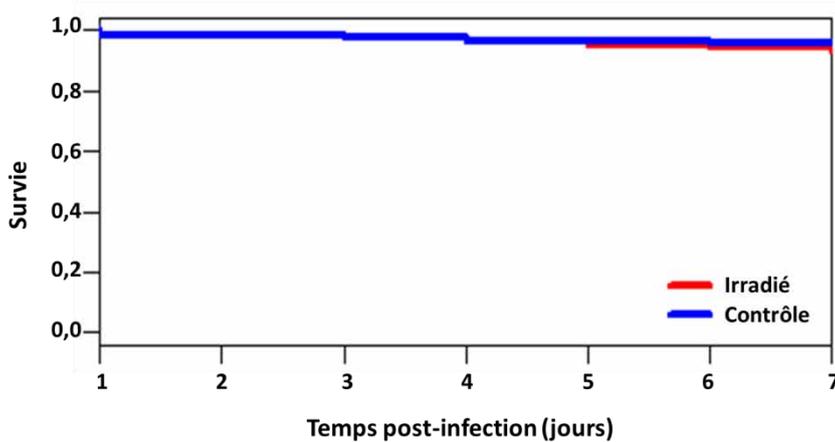


Figure 11 : Taux de survie de 1-7 jours post-infection.

3.3.4. Prévalence en sporozoïtes

Nous rappelons que seulement quatre porteurs (**E, H, I et J**) des huit porteurs (A, C, D, E, G, H, I et J) de la prévalence en oocystes ont été utilisés pour estimer la prévalence en sporozoïtes. La prévalence en sporozoïtes de ces quatre porteurs n'était pas affectée par l'irradiation ($LRT X^2_1 = 0,74$; $P = 0,39$, tableau, Figure11) et il n'y avait pas d'effet statistiquement significatif de la gamétocytemie sur la prévalence en sporozoïte ($LRT X^2_1 = 1,32$; $P = 0,25$).

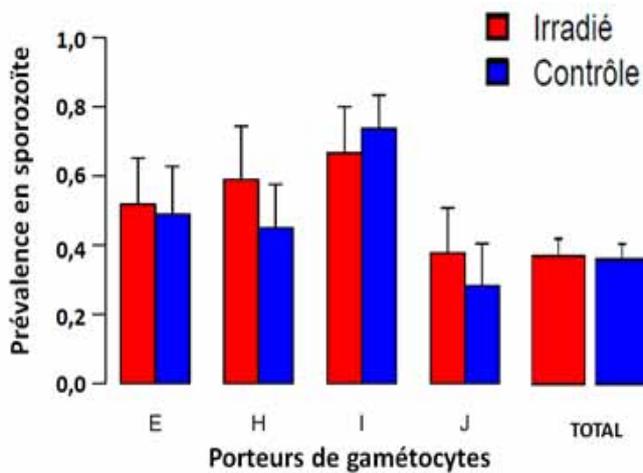


Figure 12 : Prévalence en sporozoïtes (proportion de femelles avec une présence de sporozoïtes dans les glandes salivaires). Seuls quatre porteurs de gamétocytes sur 8 ont été utilisés à cause d'un nombre réduit de moustiques (c'est-à-dire qu'après dissection à J7 il n'y avait pas de moustiques pour les porteurs A, B, C, D et G).

Pour avoir constaté que les résultats de la prévalence en oocystes des huit porteurs (A, C, D, E, G, H, I et J) est différente de celle en sporozoïtes des porteurs (E, H, I et J), nous avons analysé la prévalence en oocyste de ces 4 porteurs (E, H, I et J) uniquement et nous avons trouvé une prévalence de $0,40 \pm 0,06$ pour les non irradiées et de $0,42 \pm 0,06$ pour les irradiées. Il n'y avait donc pas d'effet statistiquement significatif de l'irradiation sur la compétence en oocyste chez ces 4 porteurs ($LRT X^2_1 = 0,14$; $P = 0,7$ bvf; figure 9). En résumé, la baisse de prévalence induite par l'irradiation (figure 9) ne s'observait pas pour tous les porteurs de gamétocytes.

3.3.5. Survie des moustiques entre 7-18 jours post-infection dans les grandes cages de la compétence en sporozoïtes

De J8 post infection jusqu'à J18 pour les porteurs E, H, I et J, la survie a été enregistrée dans les grandes cages destinées à la dissection pour la compétence en sporozoïtes. L'analyse de ces données a montré qu'il n'y avait pas de différence de survie entre les femelles irradiées et contrôles ($LRT X^2_1 = 0,97$; $P = 0,32$, Figure 13).

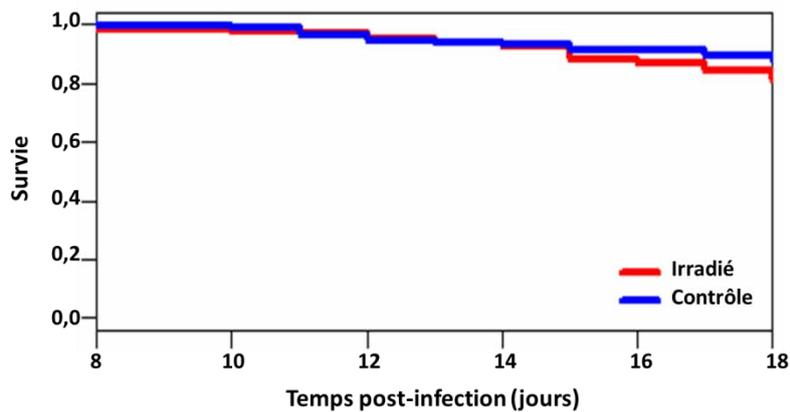


Figure 13 : Taux de survie de 8-18 jours post-infection.

3.4. Effets de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques

Quatre groupes de moustiques ont été utilisés : (i) des femelles irradiées exposées au sang infectieux, (ii) des femelles irradiées exposées au sang non infectieux, (iii) les femelles non irradiées exposées au sang infectieux et (iv) les femelles non irradiées exposées au sang non infectieux. Cet essai a été réalisé avec le porteur J (voir les figures 9, 12 et le tableau 1 pour les données d'infection chez les moustiques nourris avec du sang infectieux de ce porteur). L'état d'infection des moustiques morts a été déterminé par qPCR. Tous les moustiques exposés au sang infectieux n'ont pas été infectés avec succès et, après cette analyse, nous avons ainsi obtenu 6 groupes de moustiques: (i) non exposé irradié, (ii) non exposé contrôle, (iii) exposé irradié infecté, (iv) exposé irradié non infecté, (v) exposé contrôle infecté et (vi) exposé contrôle non infecté.

Nous n'avons trouvé aucun effet de l'irradiation sur la longévité des moustiques ($P = 0,52$; $LRT X^2_1 = 0,41$; Figure 14). Il n'y avait pas non plus d'effet de l'infection sur la longévité des moustiques ($LRT X^2_2 = 2,02$, $P = 0,36$, figure 14) et aucune interaction de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques ($LRT X^2_2 = 5,39$; $P = 0,06$; figure 14).

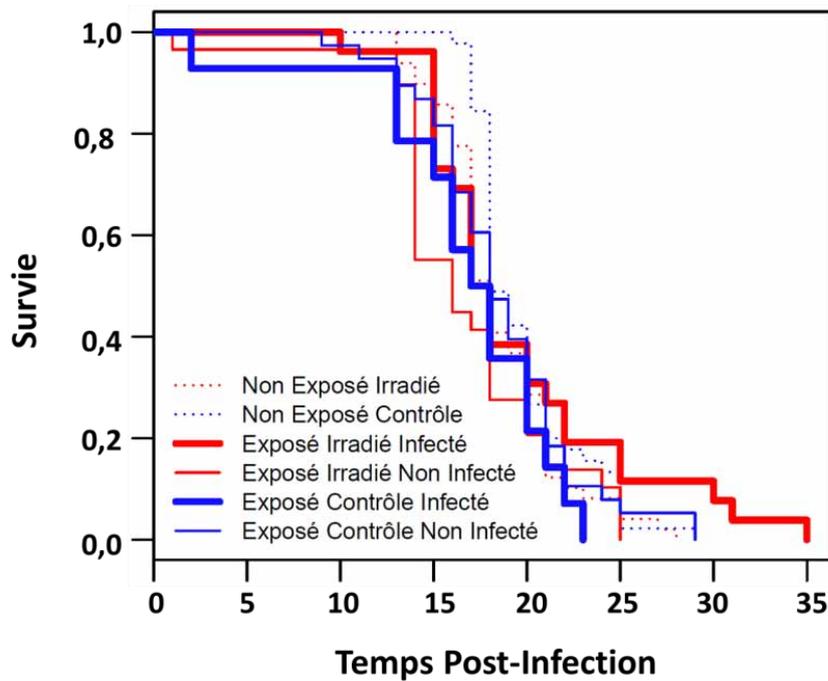


Figure 14 : Effets de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques

3.5. Effet de l'irradiation sur le taux d'oviposition des femelles irradiées et contrôles

Un effet statistiquement significatif de l'irradiation sur la ponte des femelles a été enregistré ($LRT \chi^2_1=86,02$; $P<0,001$; Fig. 15). Tandis que $80\% \pm 0,04$ des femelles contrôles ont pondus avec succès, aucune femelle irradiée n'a pondu.

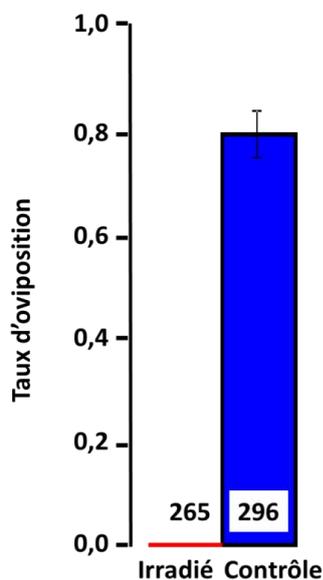


Figure 15: Effet de l'irradiation sur le taux d'oviposition des femelles. Les chiffres à l'intérieur des barres indiquent le nombre total de femelles soumises aux pontes individuelles pour chaque groupe.

4. Discussion

4.1. Taux d'émergence

L'exposition des nymphes (mâles et femelles) d'*An. arabiensis* aux rayons gamma à la dose de 70Gy n'a pas eu d'effet sur l'émergence des adultes (93%). Ces résultats confirment plusieurs études antérieures (Ndo et al. 2014; Helinski et al. 2006; Munhenga et al. 2016). Helinski et al. (2006) avaient trouvé un taux d'émergence de 96 % et Ndo et collaborateurs (2014) un taux d'émergence compris entre 97 et 99 %. Ces taux d'émergence obtenus avec des moustiques issus de colonie d'élevage en laboratoire sont comparables avec les notre obtenus à partir d'une colonie récente d'*An. arabiensis* (établie en 2015 au début de ces activités) et les *An. arabiensis* sauvages de Dioulassoba et de Soumouso.

4.2. Taux de gorgement

Nous n'avons pas trouvé de différence de taux de gorgement entre les groupes irradié et contrôle. Nos résultats sont différents de ceux trouvés par Terzian qui avait trouvé que les femelles irradiées se gorgeaient moins que les contrôles, non irradiées (Terzian 1953). Il avait expliqué son résultat par le fait que l'irradiation affaiblissait l'aptitude physique des moustiques et par conséquent les rendait moins enclins à la prise de repas sanguin. Cette différence de résultats pourraient être due au fait que ce n'est pas la même dose de radiation qui était utilisée dans les deux études, ni la même source de radiation et ni le même stade de développement du moustique. Terzian avait utilisé des doses plus élevées (5 000 à 40 000r) que celle de notre étude et les rayons X comme source de stérilisation sur des moustiques adultes. Par contre Yamada et collaborateurs en 2013 et Dandalo et al. 2017, pour la même dose d'irradiation que celle utilisée dans notre étude (70Gy) et la même source de stérilisation (rayons gamma) avaient également trouvé que l'irradiation n'avait pas un effet statistiquement significatif sur le taux de gorgement des femelles.

Cela nous amène donc à la conclusion que les faibles doses d'irradiation n'altèrent pas la capacité des moustiques à prendre un repas sanguin. Par contre les doses élevées pourraient affaiblir les moustiques (perte de la capacité à coordonner les mouvements du corps et de l'équilibre), réduisant ainsi leur aptitude à se gorger (Terzian 1953).

4.3. Compétence des moustiques

Pris globalement (en considérant tous les porteurs : A, C, D, E, G, H, I, J), la prévalence en oocyste était la moins élevée ($0,35 \pm 0,05$ pour les individus irradiés contre $0,45 \pm 0,04$ pour les individus contrôles, figure 7). En d'autres termes, la probabilité des

irradiées de devenir infecter était réduite de 10% comparativement aux non irradiées. Ainsi, la proportion de piqures infectantes sera réduite puisqu'il y'aura moins de femelles infectées mais la transmission du paludisme ne sera pas totalement bloquée par l'irradiation si ces femelles se retrouvaient dans la nature.

Nos résultats corroborent ceux de Terzian en 1953 qui avait trouvé que l'irradiation réduisait le taux de l'infection. Dans cette étude, l'irradiation causait une résistance marquée des moustiques à l'infection parasitaire par *P. gallinaceum* au fur et à mesure que la dose de rayons X augmentait. A la dose de 1 000 r de rayon X la compétence des moustiques diminuait de 1.15 fois seulement comparés aux moustiques contrôles. Tandis qu'aux doses comprises entre 5 000 et 40 000 r, la compétence diminuait d'un facteur allant de 2,75 à 4. Une possibilité est que l'irradiation interfère avec les mécanismes de résistances du moustique et/ou avec les mécanismes d'infection du parasite.

Cependant, si nous considérons nos résultats en fonction de chaque porteur, c'est seulement chez les porteurs C, D, G et I que l'on observe une réduction de l'infection suite à l'irradiation. Au vue de tous ces résultats, nous pensons que l'irradiation réduit l'infection mais cela dépend du porteur de gamétocyte. Cet effet porteur est peut-être dû à une interaction entre l'irradiation et l'immunité bloquante naturelle de l'hôte humain. Afin de tester cette possibilité, des études futures faisant intervenir un remplacement du sérum naturel par du sérum AB naïf seront menées (Da et al. 2015; Gouagna et al. 2004). Aussi cet effet porteur pourrait être expliqué par le fait que les porteurs sont confondus avec l'effet répliques/temps. En effet, pour des raisons logistiques, les répliques n'étaient pas faites en même temps au cours d'une seule expérience. Il se pourrait donc que la dose d'irradiation reçue au CIRDES par les moustiques était différente d'une réplique à l'autre. Les moustiques infectés avec les porteurs C, D, G et I pourraient avoir reçu des doses d'irradiation plus importante que les porteurs A, E, H et J. Afin de tester cette possibilité, nous placerons des films radiosensibles (Gafchromic® HD-V2 film; Ashland, Bridgewater, NJ, USA) sur les gobelets contenant les nymphes à irradier afin de mesurer finement la dose effective reçue par les moustiques au moment de l'irradiation. De plus, nous exposerons les moustiques à des doses croissantes de rayons gamma afin de déterminer si, comme dans l'étude de Terzian (1953), des doses accrues conduisent à une diminution de compétence plus importante.

A l'inverse de la prévalence en oocyste, l'intensité en oocyste n'était pas influencée par l'irradiation mais dépendait plutôt de la gamétocytemie des porteurs. Ainsi, l'intensité en oocyste augmentait avec la gamétocytemie dans le sang infectieux (cas par exemple des porteurs B et C qui avaient les gamétocytemie les plus élevées). Nos résultats confirment ceux

de (Boudin et al. 1989; Da et al. 2015) qui avaient trouvé une corrélation positive entre la densité de gamétocytes et l'intensité de l'infection.

La prévalence en sporozoïtes a été étudiée en utilisant quatre porteurs de gamétocytes et n'était influencée ni par l'irradiation, ni par la gamétocythémie. Ce résultat ne peut pas s'expliquer par un effet différentiel de l'irradiation sur les oocystes et sur les sporozoïtes puisque les moustiques ont été irradiés avant l'infection. Cependant, nous avons observé une corrélation positive entre la prévalence de l'infection au stade oocyste et la prévalence de l'infection au stade sporozoïte. En d'autres termes, la compétence des moustiques, basée sur la prévalence en sporozoïtes, est similaire à celle basée sur la prévalence en oocyste (comparaison de la figure 7 et de la figure 12). Cela montre que les oocystes mis en évidence dans les estomacs des moustiques sont positivement associés avec les sporozoïtes qui parviennent aux glandes salivaires et confirme que l'observation au stade oocyste est une bonne méthode pour estimer la compétence des moustiques pour les parasites du paludisme (Stone et al. 2013). L'explication résulte du fait que les porteurs utilisés (E, H, I et J) pour estimer l'effet de l'irradiation sur la prévalence en sporozoïtes étaient ceux pour lesquels nous n'avons pas observé d'effet de l'irradiation sur la prévalence en oocystes. Afin de confirmer ce constat, nous avons ré-analysé l'effet de l'irradiation sur la prévalence en oocystes avec ces mêmes porteurs et, en effet, nous n'avons pas trouvé d'effet de l'irradiation.

4.4. Effets de l'irradiation et de l'infection sur la longévité des moustiques

Pour une dose d'irradiation de 70Gy, il n'y avait pas d'effet de l'irradiation sur la survie des moustiques qu'il s'agisse des essais en petites cages (suivi de longévité absolue jusqu'à la mort de tous les moustiques) ou des essais à grandes cages pour la compétence (suivi de mortalité jusqu'au jours 7 et 18 post-infection). Ces résultats sont différents de ceux de Terzian qui trouvait que l'irradiation avait un effet négatif sur la survie des femelles (Terzian 1953). De manière importante, cette étude exposait les moustiques à des doses stérilisantes plus importantes. La longévité des moustiques était plus courte pour les doses les plus élevées. Pour cet auteur la réduction de la longévité chez les irradiés pourrait être due à des lésions somatiques induites par l'irradiation (Ferguson & Read 2002). Par contre nos résultats sont similaires à ceux de Dandolo et collaborateurs en 2017 qui avaient utilisé la même dose d'irradiation que celle utilisée dans notre étude.

Dans notre étude, il n'y avait pas non plus d'effet de l'infection sur la survie des moustiques. Ce résultat est différent de ceux de Ferguson et collaborateurs (2002) qui avaient

trouvé que dans 22 sur 24 expériences, les moustiques infectés par *Plasmodium* avaient une survie plus faible que celle de leurs homologues non infectés et dans les deux autres expériences, pas d'effet de l'infection sur la survie. Ils ont donc conclu que dans l'ensemble, la présence du parasite chez le moustique réduisait sa survie. Plusieurs raisons pourraient expliquer cette baisse de survie dont les dommages tissulaires dus à une perforation de l'intestin moyen par les ookinètes au cours de leur passage (Ramasamy et al. 1997). Cette perforation pourrait entraîner une infection bactérienne ou une invasion par d'autres parasites entraînant ainsi des dommages physiques (Vaughan 1996). Aussi, la présence des oocystes dans l'estomac du moustique pourrait entraîner des troubles digestifs avec la réduction de l'aminopeptidase, une enzyme digestive rentrant dans le fonctionnement de la digestion (Jahan et al. 1999). Les moustiques peuvent également montrer une gamme diverse de réponses immunitaires lors de leur envahissement par les pathogène du paludisme (Barillas-Mury et al. 2000; Dimopoulos et al. 1998; Dimopoulos et al. 2001). Ces réponses conduisent le plus souvent à des mécanismes pouvant empêcher l'installation du parasite ou à des mécanismes conduisant à l'élimination du parasite de l'organisme du moustique et cela agit négativement sur la survie des moustiques (Ferguson & Read 2002).

Pour l'essai de la longévité absolue (petite cages) nous avons utilisé le porteur J qui avait une faible gamétocythémie. En fait dans les études montrant que l'infection est coûteuse et diminue la longévité des moustiques, de fortes densités de gamétocytes ont été utilisées. Cela provoque la formation de nombreux oocystes dans les estomacs des moustiques avec pour conséquence de nombreux troubles comme précédemment cités entraînant donc une diminution de la survie. Ici le nombre d'oocystes (figure 9) était très faible pour ce porteur. Plusieurs études ont montré qu'il existait une corrélation négative entre le nombre d'oocyste et la longévité des moustiques (Dawes et al. 2009; Rivero & Ferguson 2003; Klein et al. 1986; Pollitt et al. 2013).

Dans les grandes cages qui étaient destinées à la compétence, nous n'avons pas trouvé d'effet de l'infection sur la survie. Ce résultat est peut-être dû au fait que les moustiques étaient nourris *ad libitum*. En effet, la plupart des études montrant un coût de l'infection sur la longévité ont utilisé des conditions reflétant celle de la nature donc un peu stressante (glucose 2,5% ou de l'eau seulement après l'exposition au sang infectieux, la présence de prédateurs, le développement des larves) (Aboagye-Antwi et al. 2010; Sangare et al. 2014; Alout et al. 2014; Lalubin et al. 2014; Rivero & Ferguson 2003; Roux et al. 2015)

4.5. Prévalence des œufs

La fécondité a été affectée négativement chez les femelles irradiées car aucune d'elles n'a pondu. Cela prouve que la dose de 70Gy appliquée sur les pupes est une dose suffisante pour induire une stérilisation complète des femelles. Nos résultats sont similaires à ceux de Yamada et al. (2014) et Dandolo et al. (2017) qui trouvaient que les femelles irradiées ne produisaient pas d'œufs. En effet, les femelles sont généralement plus radiosensibles que les mâles en raison d'un développement ultérieur des ovocytes. Par conséquent, au moment de l'irradiation, les ovocytes qui ne produisent pas d'œufs développent encore des mutations létales qui inhibent le développement des œufs (Bakri et al. 2005).

Conclusion

Les résultats de notre étude montrent que l'irradiation réduit le taux d'infection chez les moustiques mais sont encore des vecteurs potentiels du paludisme. Aussi nous avons trouvé que l'irradiation à la dose 70Gy et l'infection n'avaient pas d'effet sur la survie des moustiques femelles. Enfin, les femelles irradiées n'ont pas produit d'œufs, ce qui est une bonne chose au cas où les femelles irradiées sont libérées dans la nature. Elles ne contribueront pas à maintenir la densité de la population mais peuvent participer à la transmission du paludisme. Il est donc nécessaire de mener d'autres études pour développer des outils de sexage pleinement efficace pour éviter d'éventuels lâchers de femelles dans la nature car cela compromettrait les efforts pour éliminer la population locale des vecteurs du paludisme.

En perspective il est nécessaire de :

- Mener d'autres répliques en utilisant des porteurs de fortes gamétocytémies pour confirmer sur les sporozoïtes, la baisse observée sur la prévalence en oocyste.
- Vérifier si la diminution de la compétence est dose dépendante comme dans l'étude de Terzian en 1953.
- Lever le doute d'une quelconque interaction avec l'immunité bloquante et l'effet porteur sur le taux d'infection en changeant le sérum naturel par du sérum AB naïf.

Références bibliographiques

- Aboagye-Antwi, F. et al., 2010. Hydric stress-dependent effects of *Plasmodium falciparum* infection on the survival of wild-caught *Anopheles gambiae* female mosquitoes. *Malaria Journal*, 9, pp.243–254.
- Alout, H. et al., 2014. Interplay between *Plasmodium* infection and resistance to insecticides in vector mosquitoes. *Journal of Infectious Diseases*, 210, pp.1464–1470.
- Bakri, A., Mehta, K. & Lance, D.R., 2005. Sterilizing insects with ionizing radiation. In *Sterile Insect Technique: Principles and practice in area-wide integrated pest management*. Springer Netherlands, pp. 233–268.
- Barillas-Mury, C., Wizel, B. & Soo Han, Y., 2000. Mosquito immune responses and malaria transmission: Lessons from insect model systems and implications for vertebrate innate immunity and vaccine development. *Insect biochemistry and Molecular Biology*, 30, pp.429–442.
- Beech, C.J. et al., 2012. Genetically modified insects: Science, use, status and regulation. *Collection of Biosafety Reviews*, 6, pp.66–124.
- Besansky, N.J., Hill, C.A. & Costantini, C., 2004. No accounting for taste: Host preference in malaria vectors. *Trends in Parasitology*, 20, pp.249–251.
- Bhatt, S. et al., 2015. The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature*, 526, pp.207–211.
- Boissière, A. et al., 2013. Application of a qPCR assay in the investigation of susceptibility to malaria infection of the M and S molecular forms of *An. gambiae s.s* in Cameroon. *PLoS One*, 8, p.e54820.
- Boudin, C. et al., 1989. Production de sporozoites de plasmodiums humains à Bobo-Dioulasso. *Ann Soc Belge Med Trop*, 69, pp.3–23.
- Boyer, S., 2012. La technique de l'insecte stérile : Une lutte ciblée sans insecticide. *Medecine Tropical*, 72, pp.60–62.
- Carnevale, P. & Robert, V., 2009. *Les anophèles: biologie, transmission du plasmodium et lutte antivectorielle.*, Edition IRD.
- Catteruccia, F. et al., 2000. Stable germline transformation of the malaria mosquito *Anopheles stephensi*. *Nature*, 405, pp.959–962.
- Coz, J., 1978. Utilisation de la génétique dans le contrôle des espèces d'insectes vecteurs de maladies humaines. *Médecine Tropicale*, 38, pp.659–665.
- Da, D.F. et al., 2015. Experimental study of the relationship between *Plasmodium* gametocyte

- density and infection success in mosquitoes: implications for the evaluation of malaria transmission-reducing interventions. *Experimental Parasitology*, 149, pp.74–83.
- Dabiré, K.R. et al., 2009. Distribution of pyrethroid and DDT resistance and the L1014F kdr mutation in *Anopheles gambiae s.l.* from Burkina Faso (West Africa). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103, pp.1113–1120.
- Dabiré, K.R. et al., 2008. Dynamics of multiple insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* in a rice growing area in South-Western Burkina Faso. *Malaria Journal*, 7, pp.1–9.
- Dabiré, K.R. et al., 2014. Occurrence of natural *Anopheles arabiensis* swarms in an urban area of Bobo-Dioulasso city, Burkina Faso, West Africa. *Acta Tropica*, 130, pp.44–50.
- Dame, D.A. et al., 2009. Historical applications of induced sterilisation in field populations of mosquitoes. *Malaria Journal*, 8, pp.1–10.
- Dame, D.A. et al., 1974. Release of chemosterilized males for the control of *Anopheles albimanus* in El Salvador. Methods of rearing, sterilization and distribution. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23, pp.282–287.
- Dandolo, L.C. et al., 2017. Effect of ionising (γ) radiation on female *Anopheles arabiensis*. , (March), pp.38–40.
- Dawes, E.J. et al., 2009. *Anopheles* mortality is both age- and *Plasmodium*-density dependent: Implications for malaria transmission. *Malaria Journal*, 8, pp.1–16.
- Diabaté, A. et al., 2002. The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae s.l.* in Burkina Faso. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67, pp.617–622.
- Dimopoulos, G. et al., 2001. Innate immune defense against malaria infection in the mosquito. *Current Opinion in Immunology*, 13, pp.79–88.
- Dimopoulos, G. et al., 1998. Malaria infection of the mosquito *Anopheles gambiae* activates immune-responsive genes during critical transition stages of the parasite life cycle. *EMBO Journal*, 17, pp.6115–6123.
- Dyck, V.A., Hendrichs, J. & Robinson, A.S., 2005. Sterile insect technique: Principles and practice in area-wide integrated pest management. *Springer Netherlands*, 43, pp.525–545.
- Ferguson, H.M. & Read, A.F., 2002. Why is the effect of malaria parasites on mosquito survival still unresolved? *Trends in Parasitology*, 18, pp.256–261.
- Garrett-Jones, C. & Shidrawi, G.R., 1969. Malaria vectorial capacity of a population of *Anopheles gambiae*: an exercise in epidemiological entomology. *Bulletin of the World*

- Health Organization*, 40, pp.531–545.
- Gilles, J.R.L. et al., 2014. Towards mosquito sterile insect technique programmes: Exploring genetic, molecular, mechanical and behavioural methods of sex separation in mosquitoes. *Acta Tropica*, 132, pp.S178–S187.
- Gouagna, L.C. et al., 2004. Stage-specific effects of host plasma factors on the early sporogony of autologous *Plasmodium falciparum* isolates within *Anopheles gambiae*. *Tropical Medicine and International Health*, 9, pp.937–948.
- Helinski, M.E.H. et al., 2008. Towards a sterile insect technique field release of *Anopheles arabiensis* mosquitoes in Sudan: Irradiation, transportation and field cage experimentation. *Malaria Journal*, 7, pp.1–10.
- Helinski, M.E.H. & Knols, B.G.J., 2009. Sperm quantity and size variation in un-irradiated and irradiated males of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis* Patton. *Acta Tropica*.
- Helinski, M.E.H., Parker, A.G. & Knols, B.G.J., 2009. Radiation biology of mosquitoes. *Malaria Journal*, 8, pp.1–13.
- Helinski, M.E.H., Parker, A.G. & Knols, B.G.J., 2006. Radiation-induced sterility for pupal and adult stages of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis*. *Malaria Journal*, 5, pp.1–10.
- Hemingway, J. et al., 2016. Averting a malaria disaster: Will insecticide resistance derail malaria control? *The Lancet*, 387, pp.1785–1788.
- Hendrichs, J. et al., 2005. Strategic options in using sterile insects for area-wide integrated pest management. In *Sterile insect technique: Principles and practice in area-wide integrated pest management*. pp. 563–600.
- Hien, D.F.S., 2016. *Ecologie évolutive des interactions moustiques – p asmodium : influence des sources naturelles de nectar et manipulation parasitaire*. Université Polytechnique de Bobo Dioulasso.
- Jahan, N. et al., 1999. Blood digestion in the mosquito, *Anopheles stephensi*: the effects of *Plasmodium yoelii* nigeriensis on midgut enzyme activities. *Parasitology*, 119, pp.535–541.
- Klassen, W., 2009. Introduction: development of the sterile insect technique for African malaria vectors. *Malaria Journal*, 8, pp.1–4.
- Klein, T.A. et al., 1986. Correlation of survival rates of *Anopheles dirus A* (Diptera: culicidae) with different infection densities of *Plasmodium cynomolgi*. *Bulletin of the World Health Organization*, 64, pp.901–907.
- Knipling, E.F. et al., 1968. Genetic control of insects of public health importance. *Bulletin of*

- the World Health Organization*, 38, pp.421–438.
- Knipling, E.F., 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *Journal of Economic Entomology*, 48, pp.459–462.
- Lalubin, F. et al., 2014. Natural malaria infection reduces starvation resistance of nutritionally stressed mosquitoes. *Journal of Animal Ecology*, 83, pp.850–857.
- Lees, R.S. et al., 2015. Back to the future: The sterile insect technique against mosquito disease vectors. *Current Opinion in Insect Science*, 10, pp.156–162.
- Lefèvre, T. et al., 2013. Non-genetic determinants of mosquito competence for malaria parasites. *PLoS Pathogens*, 9, p.e1003365.
- Lindquist, D.A., Abusowa, M. & Klassen, W., 1993. Eradication of the new world screwworm from the libyan arab jamahiriya. In *Management of insect pests: Nuclear and related molecular and genetic techniques*. International Atomic Energy Agency (IAEA), pp. 319–330.
- MacDonald, G., 1956. Epidemiological basis of malaria control. *Bulletin of the World Health Organization*, 15, pp.613–626.
- McGraw, E.A. & O’Neill, S.L., 2013. Beyond insecticides: New thinking on an ancient problem. *Nature Reviews in Microbiology*, 11, pp.181–193.
- Munhenga, G. et al., 2016. Mating competitiveness of sterile genetic sexing strain males (GAMA) under laboratory and semi-field conditions: Steps towards the use of the sterile insect technique to control the major malaria vector *Anopheles arabiensis* in South Africa. *Parasites & Vectors*, 9, pp.1–12.
- N’Guessan, R. et al., 2003. Resistance to carbosulfan in *Anopheles gambiae* from ivory coast, based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase. *Medical and Veterinary Entomology*, 17, pp.19–25.
- Namountougou, M. et al., 2012. Multiple insecticide resistance in *Anopheles gambiae s.l.* populations from Burkina Faso, West Africa. *PLoS One*, 7, p.e48412.
- Ndo, C. et al., 2014. X-ray sterilization of the *An. arabiensis* genetic sexing strain “ANO IPCL1” at pupal and adult stages. *Acta Tropica*, 131, pp.124–128.
- Nguyen, P.L. et al., 2017. No evidence for manipulation of *Anopheles gambiae*, *An. coluzzii* and *Plasmodium falciparum*. *Scientific Reports*, 7, pp.1–11.
- OMS, 2014. Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle. , pp.1–200.
- OMS, 2016. *World Malaria Report*.
- Pages, F., Orlandi-Pradines, E. & Corbel, V., 2007. Vecteurs du paludisme: Biologie, contrôle et protection individuelle. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37, pp.153–161.

- Papathanos, P.A. et al., 2009. Sex separation strategies: Past experience and new approaches. *Malaria Journal*, 8, pp.1–8.
- Phillips, M.A. et al., 2017. Malaria. *Nature Reviews Disease Primers*.
- Pollitt, L.C. et al., 2013. Costs of crowding for the transmission of malaria parasites. *Evolutionary Applications*, 6, pp.617–629.
- Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), 2016.
- Ramasamy, M.S. et al., 1997. Interactions of human malaria parasites, *Plasmodium vivax* and *P.falciparum*, with the midgut of *Anopheles* mosquitoes. *Medical and Veterinary Entomology*, 11, pp.290–296.
- Ranson, H. et al., 2011. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: What are the implications for malaria control? *Trends in Parasitology*, 27, pp.91–98.
- Rivero, A. & Ferguson, H.M., 2003. The energetic budget of *Anopheles stephensi* infected with *Plasmodium chabaudi*: Is energy depletion a mechanism for virulence? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, pp.1365–1371.
- Robert, V. et al., 1985. La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Ann Soc Belge Med Trop*, 65, pp.201–214.
- Robinson, A.S. et al., 2009. Conceptual framework and rationale. *Malaria Journal*, 8, pp.1–9.
- Roux, O. et al., 2015. Evidence for carry-over effects of predator exposure on pathogen transmission potential. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282, pp.1–9.
- Sangare, I. et al., 2014. Stress dependent infection cost of the human malaria agent *Plasmodium falciparum* on its natural vector *Anopheles coluzzii*. *Infection, Genetics and Evolution*, 25, pp.57–65.
- Singh, B. et al., 2004. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *The Lancet*, 363, pp.1017–1024.
- Sinka, M.E. et al., 2012. A global map of dominant malaria vectors. *Parasites & Vectors*, 5, pp.1–11.
- Sinka, M.E. et al., 2010. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: Occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & Vectors*, 3, pp.1–26.
- Smith, T.A. et al., 2011. Uses of mosquito-stage transmission-blocking vaccines against *Plasmodium falciparum*. *Trends in Parasitology*, 27, pp.190–196.
- Stone, W.J.R. et al., 2013. The relevance and applicability of oocyst prevalence as a read-out

- for mosquito feeding assays. *Scientific Reports*, 3(1), p.3418. Available at: <http://www.nature.com/articles/srep03418>.
- Takken, W. & Verhulst, N.O., 2013. Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 58, pp.433–453.
- Terzian, L.A., 1953. The Effect of X-irradiation on the immunity of mosquitoes to malarial infection. *The Journal of Immunology*, 71, pp.202–206.
- Townson, H., 2009. SIT for african malaria vectors: Epilogue. *Malaria Journal*, 8, pp.1–4.
- Vantaux, A. et al., 2014. A heavy legacy: Offspring of malaria-infected mosquitoes show reduced disease resistance. *Malaria Journal*, 13, pp.1–7.
- Vaughan, A., 1996. Facilitation of rift valley fever virus transmission by *Plasmodium berghei* sporozoites in *Anopheles stephensi* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55, pp.407–409.
- Vreysen, M.J.B. et al., 2000. *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) eradicated on the Island of Unguja, Zanzibar, using the sterile insect technique. *Journal of Economic Entomology*, 93, pp.123–135.
- Yamada, H. et al., 2013. Eliminating female *Anopheles arabiensis* by spiking blood meals with toxicants as a sex separation method in the context of the sterile insect technique. *Parasites & Vectors*, 6, pp.1–10.
- Yamada, H. et al., 2014. X-ray-induced sterility in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and male longevity following irradiation. *Journal of Economic Entomology*, 51, pp.811–816.