



**République du Bénin**  
—■—  
**Université d'Abomey-Calavi**  
—■—  
**Faculté des Sciences et Techniques**



**THESE**

Pour obtenir le grade de :

**Docteur de l'Université d'Abomey-Calavi**

Spécialité : **Entomologie Médicale et Vétérinaire**

Préparée à l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie (EDSV) et exécutée au Centre de  
Recherche Entomologique de Cotonou (CREC)

Thème :

**Bioécologie de *Anopheles gambiae* (Diptera, Nematocera,  
Culicidae), principal vecteur du paludisme: impact de  
l'aridité sur la reproduction du vecteur et la transmission  
du paludisme**

Soutenue par :

**Renaud Inès Sègbégnon GOVOETCHAN**

Devant le jury composé de :

Président : **Karim DRAMANE**, Professeur Titulaire, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

Directeur de thèse : **Martin AKOGBETO**, Professeur Titulaire, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

Rapporteurs : **Ousmane FAYE**, Professeur Titulaire, Université Cheick Anta Diop, Sénégal  
**Julien DOANNIO**, Professeur Titulaire, Institut National de Santé Publique, Côte d'Ivoire  
**Kabirou MOUTAÏROU**, Professeur Titulaire, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

Examineurs : **Sékou F. TRAORE**, Professeur Titulaire, Université de Bamako, Mali  
**Nestor SAKITI**, Maître de Conférences, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

A ma fille

**Kayla Stacie V. GOVOETCHAN,**  
dont la naissance est intervenue au cours de cette thèse.

# Table des matières

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| <i>Table des matières</i> ..... | <i>ii</i>  |
| <i>Remerciements</i> .....      | <i>vii</i> |
| <i>Liste des figures</i> .....  | <i>ix</i>  |
| <i>Liste des photos</i> .....   | <i>x</i>   |
| <i>Liste des tableaux</i> ..... | <i>xi</i>  |

|                                                                                                        |          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Chapitre 1 : Introduction et généralités</b> .....                                                  | <b>1</b> |
| 1. Introduction générale.....                                                                          | 2        |
| 2. Généralités.....                                                                                    | 6        |
| 2.1. Les vecteurs du paludisme en Afrique .....                                                        | 6        |
| 2.1.1 Les anophèles et leur rôle dans la transmission .....                                            | 6        |
| 2.1.2 Le complexe <i>Anopheles gambiae</i> .....                                                       | 9        |
| 2.1.3 Distribution et comportement trophique d' <i>An. gambiae</i> s.s. et <i>An. arabiensis</i> ..... | 10       |
| 2.2. Biologie des anophèles et du plasmodium .....                                                     | 12       |
| 2.2.1. Cycle biologique des anophèles .....                                                            | 12       |
| 2.2.2. Morphologie de <i>An. gambiae</i> .....                                                         | 13       |
| 2.2.2.1. L'œuf.....                                                                                    | 13       |
| 2.2.2.2. La larve.....                                                                                 | 13       |
| 2.2.2.3. La nymphe.....                                                                                | 14       |
| 2.2.2.4. L'adulte .....                                                                                | 14       |
| 2.2.3. Cycle de développement du Plasmodium .....                                                      | 15       |
| 2.2.3.1. Cycle chez l'homme .....                                                                      | 15       |
| 2.2.3.2. Cycle chez l'Anophèle .....                                                                   | 16       |
| 2.3. Cycle gonotrophique d' <i>Anopheles gambiae</i> : évolution du concept.....                       | 17       |
| 2.3.1. Définition des terminologies fécondité et fertilité chez les femelles de <i>An. gambiae</i> ..  | 17       |
| 2.3.2 Evolution du concept de cycle gonotrophique .....                                                | 18       |
| 2.3.2.1. Recherche et piqure de l'hôte.....                                                            | 19       |
| 2.3.2.2. Digestion et maturation ovarienne .....                                                       | 20       |
| 2.3.2.3. Recherche de lieu de ponte.....                                                               | 21       |
| 2.4. Ecologie et comportement des anophèles .....                                                      | 22       |
| 2.4.1. Ecologie larvaire .....                                                                         | 22       |

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.2. Ecologie et comportement des anophèles adultes .....          | 23 |
| 2.5. Quelques indicateurs de la survie chez <i>An. gambiae</i> ..... | 25 |

## **Chapitre 2 : Matériel et méthodes ..... 26**

|                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Impact d'une longue rétention des œufs sur les performances de reproduction, les comportements trophique et d'oviposition des femelles gravides d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l... 27 | 27 |
| 1.1. Caractéristique de la population d' <i>An. gambiae</i> étudiée .....                                                                                                                | 27 |
| 1.2. Techniques et conditions d'élevage au laboratoire .....                                                                                                                             | 27 |
| 1.3. Capacité de ponte d' <i>An. gambiae</i> privé de pondoir et de repas sanguin.....                                                                                                   | 28 |
| 1.4. Viabilité des œufs dans un contexte de rétention d'œufs.....                                                                                                                        | 30 |
| 1. 5. Emergence des adultes issues des œufs retenus dans les ovaires chez les femelles gravides d' <i>An. gambiae</i> .....                                                              | 30 |
| 1.6. Activité trophique chez les femelles gravides d' <i>An. gambiae</i> .....                                                                                                           | 31 |
| 1.7. Espérance de vie des femelles gravides d' <i>An. gambiae</i> .....                                                                                                                  | 31 |
| 1.8. Analyse des données .....                                                                                                                                                           | 31 |
| 2. Répartition spatio-temporelle des stades préimaginaux et diversité des habitats larvaires des moustiques.....                                                                         | 32 |
| 2.1. Présentation de la zone d'étude .....                                                                                                                                               | 32 |
| 2.1.1. Les villages du secteur S+ .....                                                                                                                                                  | 32 |
| 2.1.2. Les villages du secteur S++ .....                                                                                                                                                 | 33 |
| 2.2. Géo-référencement des gîtes de reproduction de moustique .....                                                                                                                      | 37 |
| 2.2.1. Identification, géo-positionnement des gîtes et densité larvaire .....                                                                                                            | 37 |
| 2.2.2. Dynamique, suivi périodique et cartographie des gîtes larvaires référencés .....                                                                                                  | 37 |
| 2.3. Collecte de données.....                                                                                                                                                            | 37 |
| 3. Etude de la dynamique de population, des caractéristiques moléculaires et de l'infectivité au <i>Plasmodium falciparum</i> des anophèles vecteurs du paludisme .....                  | 38 |
| 3.1. Site d'étude.....                                                                                                                                                                   | 38 |
| 3.2. Echantillonnage des populations d'anophèles adultes .....                                                                                                                           | 38 |
| 3.2.1 Capture de nuit sur appât humain.....                                                                                                                                              | 39 |
| 3.2.2 Capture par piège fenêtre (window trap) suivie d'aspersion intradomiciliaire .....                                                                                                 | 40 |
| 3.3 Caractérisation des populations d'anophèles .....                                                                                                                                    | 41 |
| 3.3.1 Identification de l'état physiologique des anophèles capturés .....                                                                                                                | 41 |

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.2 Caractérisation moléculaire des populations d' <i>Anophèles gambiae</i> récoltées dans les sites (PCR espèce, forme, kdr et ace-1)..... | 41 |
| 3.3.3 Recherche de l'antigène circumsporoïzotique (CSP) du plasmodium chez les moustiques (ELISA) .....                                       | 42 |
| 3.4 Analyse des données .....                                                                                                                 | 42 |
| 4. Enquête parasito-clinique du paludisme en saison sèche .....                                                                               | 43 |
| 4.1 Données rétrospectives sur l'incidence du paludisme de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++.....                                       | 43 |
| 4.2 Etude de la prévalence du <i>Plasmodium falciparum</i> dans les secteurs S+ et S++ pendant les saisons sèches de longue durée .....       | 44 |
| 4.2.1 Justification .....                                                                                                                     | 44 |
| 4.2.2 Population cible : critères d'inclusion et d'exclusion .....                                                                            | 44 |
| 4.2.3 Démarche administrative et déroulement de l'enquête .....                                                                               | 44 |
| 4.2.4 Approbation éthique .....                                                                                                               | 45 |
| 4.2.5 Principe du Test de Diagnostic Rapide (TDR) du paludisme .....                                                                          | 45 |
| 4.2.6 Paramètres mesurés .....                                                                                                                | 47 |
| 4.2.7 Analyse des données .....                                                                                                               | 47 |

### **Chapitre 3 : Impact d'une longue rétention des œufs sur les performances de reproduction, les comportements trophique et d'oviposition des femelles gravides d'*Anopheles gambiae* s.l** .....

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introduction .....                                                                                                                        | 49 |
| 2. Résultats .....                                                                                                                           | 50 |
| 2. 1. Capacité de ponte des femelles nullipares de <i>An. gambiae</i> privées de pondoir et de repas sanguin.....                            | 50 |
| 2.2. Viabilité des œufs dans un contexte de rétention d'œufs .....                                                                           | 51 |
| 2.3. Relation entre le nombre d'œufs éclos et le nombre d'œufs embryonnés. ....                                                              | 53 |
| 2.4. Variation du taux d'émergence des imagos issus des œufs retenus dans les ovaires chez les femelles gravides de <i>An. gambiae</i> ..... | 55 |
| 2.5 Activité trophique des femelles gravides .....                                                                                           | 57 |
| 2.6. Espérance de vie des femelles sauvages gravides d' <i>An. gambiae</i> .....                                                             | 58 |
| 3. Discussion .....                                                                                                                          | 59 |
| 4.Conclusion.....                                                                                                                            | 62 |

## **Chapitre 4 : Répartition spatio-temporelle des stades pré imaginaires et diversité des habitats larvaires des moustiques ..... 63**

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introduction .....                                                           | 64 |
| 2. Résultats .....                                                              | 65 |
| 2.1. Caractéristiques géophysique et hydrographique des villages d'étude .....  | 65 |
| 2.2. Habitats larvaires de moustiques pendant la saison sèche .....             | 65 |
| 2.3. Genres de moustiques identifiés dans les gîtes recensés .....              | 68 |
| 2.4. Estimation de la densité larvaire d'anophèle dans les gîtes recensés ..... | 70 |
| 2.5. Cartographie des gîtes larvaires de moustique .....                        | 72 |
| 2.5.1 Distribution des gîtes de reproduction de moustiques .....                | 72 |
| 2.5.2 Habitats larvaires d'anophèles pendant la saison sèche .....              | 73 |
| 3. Discussion et conclusion .....                                               | 79 |
| 3.1. Discussion .....                                                           | 79 |
| 3.2. Conclusion .....                                                           | 81 |

## **Chapitre 5 : Etude de la dynamique de population, des caractéristiques moléculaires et de l'infectivité au Plasmodium falciparum des anophèles vecteurs du paludisme ..... 82**

|                                                                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. Introduction .....                                                                                                                            | 83  |
| 2. Composition et caractéristique de la faune culicidienne .....                                                                                 | 84  |
| 3. Densité vectorielle et dynamique des populations .....                                                                                        | 84  |
| 4. Taux de piqure des anophèles et fluctuation saisonnière .....                                                                                 | 89  |
| 5. Taux de gorgement et infectivité d' <i>An. gambiae</i> .....                                                                                  | 92  |
| 5.1 Taux de gorgement .....                                                                                                                      | 92  |
| 5.2 Infectivité de <i>An. gambiae</i> au <i>P. falciparum</i> .....                                                                              | 93  |
| 6. Résultats de la caractérisation moléculaire de <i>An. gambiae s.l.</i> et fluctuations saisonnières des différentes formes moléculaires ..... | 95  |
| 7. Caractérisation des mutations <i>Kdr</i> L1014F et <i>Ace-1</i> et variations saisonnières .....                                              | 95  |
| 7.1 Mutation <i>Kdr</i> L1014F .....                                                                                                             | 95  |
| 7.2. Mutation <i>ace-1</i> .....                                                                                                                 | 96  |
| 8. Discussion .....                                                                                                                              | 100 |
| 9. Conclusion .....                                                                                                                              | 103 |

## **Chapitre 6 : Données parasito-cliniques du paludisme en saison sèche..... 105**

|                                                                                                                           |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. Introduction .....                                                                                                     | 106 |
| 2. Résultats .....                                                                                                        | 106 |
| 2.1. Données rétrospectives sur l'incidence du paludisme de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++.....                  | 106 |
| 2.1.2. Fréquence des cas de paludisme dans les secteurs S+ et S++ suivant les saisons de l'année entre 2008 et 2013 ..... | 109 |
| 2.1.3. Poids du paludisme pendant la saison sèche .....                                                                   | 112 |
| 2.1.3.1. Dans tous les groupes d'âges .....                                                                               | 112 |
| 2.1.3.2. Chez les enfants de 0 à 9 ans .....                                                                              | 112 |
| 2.2. Etude de la prévalence du <i>Plasmodium falciparum</i> dans les secteurs S+ et S++ pendant la saison sèche .....     | 117 |
| 2.2.1. Caractéristique de la population considérée.....                                                                   | 117 |
| 2.2.2. Résultats de la prévalence du <i>P. falciparum</i> dans les secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi.....         | 119 |
| 2.2.3. Influences des facteurs collatéraux sur la prévalence du paludisme.....                                            | 119 |
| 3. Discussion .....                                                                                                       | 121 |
| 4. Conclusion.....                                                                                                        | 124 |

## **Chapitre 7 : Discussion générale, conclusion et perspectives..... 125**

|                                                                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. La biologie et le comportement des vecteurs du paludisme face à l'absence prolongée des gîtes de ponte.....                                    | 126 |
| 2. Disponibilité des habitats larvaires et de ponte pour les anophèles pendant les saisons sèches de longue durée .....                           | 127 |
| 3. Niveau de transmission et situation parasito-clinique du paludisme dans les secteurs S+ et S++ pendant les saisons sèche de longue durée ..... | 128 |
| 4. Conclusion générale, limites et perspectives.....                                                                                              | 130 |

## Remerciements

Cette thèse marque la fin d'une très belle période d'apprentissage et de total épanouissement au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC). Tout au long de mes travaux de recherche et de la rédaction, beaucoup de personnes m'ont encouragé et soutenu à différents niveaux. Aujourd'hui, j'aimerais pouvoir les remercier :

- En premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de thèse Pr Martin AKOGBETO pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de m'accueillir dans son centre, le CREC, d'encadrer successivement mon diplôme d'Ingénieur des Travaux en Analyses Biomédicales, mon Master d'Entomologie Appliquée et ce travail doctoral. J'aimerais lui dire combien j'ai été impressionné par son humilité, et sa totale disponibilité. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute, de compréhension et à son implication sans réserve.

- Ma profonde reconnaissance va d'une part à l'endroit de l'Etat béninois à travers son ministère en charge de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique pour m'avoir doté d'une allocation et d'un appui financier, et d'autre part à l'endroit de l'USAID/PMI avoir assuré mes différents déplacements dans la commune de Kandi et mis à ma disposition tout le matériel et les réactifs nécessaires à la réalisation de cette étude.

- Je souhaiterais exprimer ma gratitude à ma tendre épouse Nabéi Alida AGOUA GOVOETCHAN pour la paix et l'excellente ambiance qu'elle s'évertue à faire régner dans le couple et dans le ménage. Je n'aurais jamais pu finir ce travail sans son soutien permanent et son aptitude à se dédoubler pour jouer un rôle à la fois de père et de mère auprès de notre princesse Kayla lors de mes absences répétées. Je voudrais que ce travail soit le signe de notre unité et de notre complicité que je voudrais éternelle.

- J'exprime un profond respect et une estime particulière à l'endroit du Professeur Emérite Karim DRAMANE pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury qui a évalué cette thèse.

- Je dis infiniment merci aux Professeurs Kabirou MOUTAÏROU, Ousmane FAYE et Julien DOANNIO pour le fait que, en dépit de leurs occupations et responsabilités plurielles, ils aient accepté d'être pré-rapporteurs de cette thèse et de participer au jury de soutenance.

- Je suis également reconnaissant aux Professeurs Nestor SAKITI et Sékou TRAORE pour avoir accepté siéger dans ce jury international de haut niveau en qualité d'examineurs.

- Je ne saurais oublier les responsables de mon école, l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie, en particulier les Professeurs Ambaliou SANNI, Kabirou MOUTAÏROU et Akpovi AKOUEGNINOU, pour avoir toujours répondu à mes sollicitations administratives.

- Mes sincères remerciements vont également à l'endroit de mes parents Léopold S. GOVOETCHAN et Bertine YLONFOUN pour avoir été toujours présents dans ma vie, même après que j'aie quitté le cercle familial. Leurs interventions perpétuelles de recadrage et de pression m'ont toujours indiqué le bon chemin et le devoir d'honnêteté.

- Je sais infiniment gré à mes frères et sœurs particulièrement à Luckresse et Brice GOVOETCHAN pour tout ce que nous avons partagé de précieux depuis toujours. Par l'ambiance et la gaieté qui ont caractérisé nos relations, vous avez rendu les choses aisées pour moi.

- J'exprime également mes remerciements à tous mes collègues de bureau, Dr Razaki OSSE, Arthur SOVI, Rock AIKPON et Rodrigue AGOSSA pour leur sympathie et leur entraide quotidienne.

- Ma reconnaissance va à l'endroit de tous les collègues de la 27<sup>e</sup> promotion de la formation en Analyses Biomédicales de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC) et de la 3<sup>e</sup> promotion du Master d'Entomologie Appliquée particulièrement à Virgile GNANGUENON, Roseline ATTOLOU, Kéfilath BADIROU, Ramziyath AGBANRIN, Nazaire AIZOUN et Laurette KIKI pour leur sympathie et leur solidarité.

- Je dis infiniment merci à tout le personnel du CREC particulièrement à Frédéric OKE-AGBO, Roseric AZONDEKON, Olivier OUSSOU, Médard YAMADJAKO, Clémence DURAN, Sébastien KOUDENOUKPO, Geraldo HOUNDETON, Aboubakar SIDICK, Lazare HOUNKANRIN, Saka ALABI, Issiaka ADELODJOU et Roland ALIA pour leur sympathie et leur collaboration.

- J'adresse mille mercis à Dr Gil Germain PADONOU, Dr Angès YADOULETON, Dr Armel DJENONTIN et Dr Sahabi BIO-BANGANA pour m'avoir guidé et nourri de leurs précieux conseils.

- Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas à Albert SALAKO et Abel AGBEVO pour leur sacrifice et leur collaboration.

- Je dis enfin merci à tous les instituteurs, professeurs et enseignants-chercheurs qui ont participé à ma formation et à mon éducation et exprime ma sincère reconnaissance à tous les distingués membres du jury qui ont accepté siéger pour juger de la qualité de ce travail de thèse.

## Liste des figures

**Figure 1:** Distribution globale des anophèles vecteurs principaux, secondaires et potentiels (Sinka *et al.*, 2012)

**Figure 2 :** Distribution de *An. arabiensis* (a) et *An. gambiae* en Afrique (Rogers *et al.*, 2002)

**Figure 3 :** Cycle biologique des anophèles (Clements, 1992)

**Figure 4 :** Cycle de développement du Plasmodium (Su *et al.*, 2007)

**Figure 5 :** Aspects de l'abdomen chez un anophèle femelle

**Figure 6:** Commune de Kandi avec les cours d'eau permanents et les villages d'étude

**Figure 7:** Evolution des moyennes mensuelles de la pluviométrie (a) en mm de pluies et des températures minimum et maximum (b) en °C à Kandi.

**Figure 8:** Nombre de jours de précipitations  $\geq 1$  mm (a) et moyenne mensuelle du nombre d'heures de soleil par jour (b) à Kandi

**Figure 9:** Principe du test de détection antigénique du paludisme (Hance *et al.*, 2005)

**Figure 10:** nombre moyen d'œufs pondus par les femelles *An. gambiae* dans chaque cas de rétention.

**Figure 11:** variation du taux d'éclosion des œufs de *Anopheles gambiae* dans différents cas de rétention.

**Figure 12:** variation des taux d'éclosion et d'embryonnement des œufs de *Anopheles gambiae* en fonction des jours de rétention.

**Figure 13:** variation du taux d'émergence des adultes de *An. gambiae* en fonction de la durée de rétention des œufs.

**Figure 14:** relation entre les taux d'embryon, les taux d'éclosion et les taux d'émergence en fonction de la durée de rétention des œufs.

**Figure 15:** Activité trophique des femelles gravides d'*An. gambiae*

**Figure 16:** Espérance de vie des femelles gravides en attente de ponte

**Figure 17:** Evolution de la densité larvaire (nombre de larves d'anophèles/louchée/gîte/village) en fonction de la période de l'année

**Figure 18:** distribution des gîtes de reproduction de moustique à Sorsoro (secteur S+) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)

**Figure 19:** distribution des gîtes de reproduction de moustique à Pèdè (secteur S+) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)

**Figure 20:** distribution des gîtes de reproduction de moustique à Kossarou (secteur S++) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)

**Figure 21:** distribution des gîtes de reproduction de moustique dans le village de Thui (secteur S++) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)

**Figure 22:** Tendance des densités moyennes de *An. gambiae* et de l'ensemble des moustiques capturés suivant les saisons entre mai 2012 et septembre 2013 dans le secteur S+ (a) et dans le secteur S++ (b)

**Figure 23:** Pyramides des âges des patients chez qui les cas de paludisme ont été signalés à Gansosso dans le secteur S++ (a) et à Sonsoro dans le secteur S+ (b) de 2008 à 2012

**Figure 24:** Vulnérabilité au paludisme des patients enregistrés à Sonsoro dans le secteur S+ et à Kandi-centre dans le secteur S++ de 2008 à 2012 suivant la classe d'âge

**Figure 25:** Fréquence des cas de paludisme dans deux zones rurale et urbaine de Kandi chez les tous les patients (a) et particulièrement chez les enfants de 0 à 9 ans (b) de 2008 à 2012.

**Figure 26:** Pyramide des âges des enfants soumis aux tests de diagnostic rapide du paludisme

## Liste des photos

**Photo 1:** Photo montrant le conditionnement des larves au larvarium du CREC

**Photo 2:** photo montrant la technique de gorgement des femelles *An. gambiae*.

**Photo 3:** Capture des moustiques sur homme

**Photo 4:** Capture des moustiques par piège fenêtre (a) et par aspersion de bombes aérosols (b)

## Liste des tableaux

**Tableau I:** Nombre de ponte des femelles nullipares suivant les différents cas de rétention.

**Tableau II:** Taux d'éclosion des œufs pondus dans chaque cas de rétention.

**Tableau III:** Taux d'éclosion et d'embryon des œufs de *Anopheles gambiae* suivant la durée de rétention.

**Tableau IV:** taux d'émergence des nymphes suivant les différentes modalités de rétention des œufs.

**Tableau V:** Caractéristiques géophysique et hydrographique des sites d'étude

**Tableau VI:** Diversité saisonnière des habitats larvaires dans les secteurs S+ S++ entre mai 2012 et Avril 2013 en fonction des saisons

**Tableau VII:** type de gîtes rencontrés par saison dans les secteurs S+ et S++ en fonction des genres de moustiques qu'ils abritent

**Tableau VIII:** estimation de la densité larvaire exprimée en nombre de larves d'anophèles par louchée en fonction des saisons

**Tableau IX:** Habitats larvaires d'anophèles durant la sécheresse

**Tableau XI:** Variation des densités moyennes de *An. gambiae* en fonction des saisons et leur significativité entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XII :** Densité agressives moyennes des femelles d'*An. gambiae* à Sonsoro (secteur S+) et à Kossarou (secteur S++) entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XIII :** Estimation de la densité agressive moyenne d'*An. gambiae* après capture par piège-fenêtre suivie d'aspersion intra-domiciliaire de bombe aérosol à Pèdè (secteur S+) et à Thui (secteur S++) entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XIV :** Taux de gorgement de *An. gambiae* capturé par piège-fenêtre et par aspersion intradomiciliaire de bombe aérosol dans les villages des secteurs S+ et S++ entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XV:** Taux d'inoculation entomologique de *An. gambiae* capturé à Sonsoro, Pèdè, Kossarou et Thui entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XVI :** Résultats de la caractérisation moléculaire de *An. gambiae* s.s. et fluctuations saisonnières des différentes formes moléculaires entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XVII :** Résultats de la fréquence allélique concernant la mutation *Kdr* L1014F chez *An. gambiae* capturés à Sonsoro, Pèdè, Kossarou et Thui entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XVIII:** Résultats de la fréquence allélique concernant la mutation *ace-1* chez *An. gambiae* capturés à Sonsoro, Pèdè, Kossarou et Thui entre mai 2012 et septembre 2013

**Tableau XIX:** variation de fréquence des cas de paludisme suivant les saisons de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++

**Tableau XX a:** variation de fréquence des cas de paludisme chez les enfants de 0-9 ans suivant les saisons de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++

**Tableau XX b:** Variation de fréquence des cas de paludisme chez les enfants de moins de 10 ans dans les cas de paludisme enregistrés suivant les saisons dans les secteurs S+ et S++

**Tableau XXI :** Répartition selon le sexe et l'âge des enfants retenus pour la réalisation des tests de diagnostic rapide du paludisme

**Tableau XXII:** Résultats des tests de diagnostic rapide (TDR) effectués chez 400 écoliers à Kandi-centre et à Sonsoro

**Tableau XXIII:** Evaluation de l'influence du degré d'aridité, du sexe, du niveau d'étude, de l'âge et du poids des enfants sur la fréquence du paludisme dans les secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi par régression logistique

## **Chapitre 1 :**

---

### **Introduction et généralités**

## 1. Introduction générale

Les maladies à transmission vectorielle représentent 17% des maladies infectieuses et figurent parmi les plus importantes pathologies en santé humaine, tant par la morbidité que par la mortalité qu'elles entraînent (WHO, 2004). Ces maladies sont principalement répandues dans les régions tropicales où elles sont à la fois les causes et les conséquences de sous-développement ; leur impact en santé publique constitue un frein à l'éducation des enfants et au développement économique des pays (Farenhorst *et al.*, 2010).

Parmi les maladies à transmission vectorielle, les maladies parasitaires, en particulier le paludisme, constituent des menaces constantes de santé publique (WHO, 2011). Le paludisme est essentiellement présent dans les pays tropicaux d'Amérique Latine, d'Asie, et majoritairement, d'Afrique où les conditions climatiques sont particulièrement favorables au développement du vecteur (Collins & Paskewitz 1995). Il existe environ deux cents espèces de *Plasmodium*, parasite responsable de la maladie, qui peuvent infecter les oiseaux, les reptiles, les singes, les chimpanzés et les rongeurs (animaux à sang chaud) (Escalante & Ayala, 1994). Parmi les cinq espèces de *Plasmodium* responsable de l'infection chez l'homme, *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus fréquente et la plus dangereuse qui induit les formes les plus graves avec la survenue d'accès cérébraux sévères responsables des décès palustres. Ces dernières décennies, il a été rapporté des cas d'infections humaines avec des espèces simiesques du paludisme, dont *P. knowlesi*, *P. inui*, *P. cynomolgi* (Garnham, 1996), *P. simiovale*, *P. brazilianum*, *P. schwetzi* et *P. simium*. Cependant, à l'exception de *P. knowlesi*, ces infections restent limitées et sans importance en termes de santé publique (Permin & Madsen, 2001).

Selon le Rapport 2013 de l'Organisation Mondiale de la Santé, on estimait à 207 millions le nombre de cas de paludisme dans le monde en 2012 dont la majorité (80%) se retrouve sur le continent africain. De plus, l'Afrique compte 90% des 627000 cas de décès enregistrés en 2012 (WHO, 2013). Au Bénin, le paludisme vient en tête des motifs de consultation et d'hospitalisation. La distribution du paludisme n'est pas homogène. Son incidence à Kandi au nord-est en 2012 était de 28,55% dépassant largement la moyenne nationale qui est de 14,6 pour 100 Béninois (Ministère de la Santé, 2013).

Le moyen le plus efficace aujourd'hui de prévenir la transmission du paludisme est de rompre le contact entre l'homme et le vecteur. Pour atteindre cet objectif, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) préconise un ensemble de mesures parmi lesquelles une place importante est

accordée à la lutte antivectorielle et plus particulièrement aux méthodes de protection individuelle et collective. Ainsi, depuis quelques années, de nombreux efforts sont consentis dans ce domaine en Afrique à travers les campagnes de distribution des Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'action (MILD) et la Pulvérisation Intra-domiciliaire d'Insecticide (PID) soutenues par de nombreux bailleurs. Mais les résultats obtenus à ce jour ne sont pas très encourageants en raison de l'apparition de la résistance des vecteurs aux insecticides (Akogbeto *et al.*, 2010). Par ailleurs, le succès de la lutte antivectorielle repose avant tout sur la connaissance profonde des vecteurs. Pour lutter contre les moustiques, il faut d'abord connaître leur biologie, leur mode de vie, leur habitat, leur préférence trophique, leur écologie, leur comportement face aux outils de lutte antivectorielle et leur flexibilité d'adaptation aux conditions défavorables à leur survie.

Selon Knols *et al.* (1999) et Besansky *et al.* (2004), les principaux vecteurs qui transmettent le paludisme en Afrique au sud du Sahara (*An. gambiae* s.s, *An. funestus* et *An. arabiensis*) ont une large répartition dans la plupart des pays et sont capables de se maintenir dans différents environnements. Ainsi, on les rencontre dans les vastes savanes sèches et dans les zones semi-désertiques où ils sont capables d'assurer le maintien de la transmission du paludisme pendant les périodes de sécheresse (Tanser *et al.*, 2003). La survie des vecteurs majeurs du paludisme et leur adaptation aux situations météorologiques extrêmes qui sévissent sous forme de longue et redoutable sécheresse dans certaines régions d'Afrique, en particulier dans les zones semi-désertiques demeurent une énigme à élucider (Taylor *et al.*, 1993 ; Lehmann *et al.*, 2010 ). En effet dans ces régions, l'eau nécessaire au développement des larves d'anophèles est inexistante tout au long de cette période de l'année (6-8 mois) (Charlewood *et al.*, 2000 ; Donnelly *et al.*, 2002) et le rapide repeuplement en larves observé dès le démarrage de la saison pluvieuse au niveau des habitats larvaires d'anophèles restent encore mal documentés (Adamou *et al.*, 2011). Cet aspect de la transmission du paludisme a toujours été négligé en raison des difficultés d'échantillonnage des populations anophéliennes à cette période de l'année. Or, malgré l'absence de gîtes larvaires, on continue d'enregistrer des cas de paludisme dans les formations sanitaires (Bøgh *et al.*, 2007).

Au Bénin, dans la partie septentrionale où la saison sèche dure environ un semestre, de nombreux cas de paludisme sont diagnostiqués pendant la sécheresse lors des consultations dans les formations sanitaires (Ministère de la Santé, 2013). Même si ces cas inattendus pourraient être liés à des rechutes ou à des cas de paludisme d'importation, l'éventualité d'infections récentes n'est pas à écarter au regard de l'ampleur de la prévalence. Par ailleurs,

Adamou (2007) a montré dans la région de Niamey que, malgré des températures extrêmes (plus de 45 degrés le jour et moins de 18 degrés la nuit) et une humidité relative très faible de l'ordre de 18%, certaines populations d'*An. gambiae* arrivent à survivre. Compte tenu de la fréquence relativement élevée des cas de paludisme pendant les longues sécheresses et de leur régularité dans le temps au sein d'une population humaine sédentaire, il y a au moins deux explications possibles qu'il faut explorer. Selon les travaux de Taylor *et al.* (1993), Simard *et al.* (2000) et Minakawa *et al.* (2001), les vecteurs passent la saison sèche en petit nombre dans des refuges qui ne sont pas facilement accessibles pour leur capture et ressortent dès que les conditions climatiques deviennent meilleures. Les œufs d'*An. gambiae* ne supportant pas la dessiccation, la première forme d'adaptation des anophèles aux conditions arides ne peut concerner que le stade adulte. Selon d'autres auteurs, en période de sécheresse, les anophèles vecteurs du paludisme migrent de façon active vers des zones voisines ayant des conditions convenables pour les moustiques et ne reviennent à leur point de départ que lorsque les conditions deviennent meilleures (phénomène de migration).

Ces dernières années, les changements climatiques font parler d'eux avec une élévation de la température et une sécheresse de plus en plus longue, ce qui constitue un véritable problème de survie chez les vecteurs. Dans ces conditions, il devient capital d'analyser la relation entre l'aridité du milieu et le cycle de développement des anophèles. C'est sur cette base que nous avons choisi d'entreprendre les travaux de cette thèse qui s'intitule : « **Bioécologie de *Anopheles gambiae* (Diptera, Nematocera, Culicidae), principal vecteur du paludisme: impact de l'aridité sur la reproduction du vecteur et la transmission du paludisme** ».

Quatre hypothèses justifient ce travail à savoir :

- a) le long portage des œufs dans les ovaires chez les femelles gravides d'*An. gambiae* pour cause d'absence de gîte de ponte pendant la sécheresse influence la qualité de ces œufs;
- b) pendant les saisons sèches de longue durée, la nature des habitats larvaires d'anophèles (s'il en existe) n'est pas la même qu'en saison pluvieuse ;
- c) pendant les longues sécheresses, la transmission du paludisme s'arrête;
- d) pendant les saisons sèches de longue durée, la prévalence du paludisme est faible.

Le principal objectif de ce travail est d'étudier les conséquences des très longues sécheresses sur le cycle biologique des anophèles vecteurs et sur le niveau de transmission du paludisme. De façon spécifique, notre thèse vise à :

- a) étudier l'impact de la rétention des œufs chez *Anopheles gambiae* au-delà du cycle gonotrophique sur la fertilité et la fécondité des femelles en attente de ponte ;
- b) étudier la répartition spatio-temporelle et la diversité des habitats larvaires d'anophèles dans un environnement caractérisé par une longue saison sèche ;
- c) étudier la dynamique de population et l'infectivité au *Plasmodium falciparum* des anophèles vecteurs du paludisme dans un environnement caractérisé par une longue saison sèche ;
- d) étudier la prévalence du paludisme pendant les saisons sèches de longue durée.

La présente thèse a été subdivisée en sept chapitres articulés autour des articles publiés et soumis pour publication. Ces chapitres ont été retenus sur la base de leur contenu et ont été ordonnés de façon à faciliter une bonne compréhension de la méthodologie adoptée et une meilleure présentation du document.

Avant de présenter les résultats des différents aspects étudiés, nous avons présenté dans la suite de ce chapitre introductif, quelques généralités sur la biologie, le comportement et l'écologie des anophèles vecteurs, de même que sur la transmission du paludisme.

Dans le second chapitre, nous avons fait le point de la démarche méthodologique suivie et du matériel utilisé. Nous avons montré les différentes techniques d'échantillonnage des populations sauvages de moustiques, et le protocole de traitement du matériel biologique selon les objectifs fixés. Une attention particulière a été accordée aux méthodes d'analyses statistiques utilisées dans le but de faciliter une bonne interprétation des données recueillies.

Dans le troisième chapitre, nous avons conduit une série de simulations au laboratoire dans le but de suivre la fécondité et la fertilité des femelles gravides d'*An. gambiae* forcées de garder leurs œufs dans les ovaires au-delà de la durée du cycle gonotrophique. Ainsi, nous avons collecté des données préliminaires afin de mieux comprendre les conséquences de l'absence des gîtes de ponte sur la biologie et le comportement des spécimens d'anophèles gravides en attente d'oviposition.

Nous avons entrepris dans le quatrième chapitre, une étude sur la répartition spatio-temporelle des stades pré-imaginaux et la diversité des habitats larvaires des moustiques dans

la zone d'étude en comparant la situation observée au cours des saisons sèches de longue durée à celle de la saison pluvieuse. Ce travail a permis une caractérisation et une bonne maîtrise des sites retenus pour l'échantillonnage des moustiques.

Dans le cinquième chapitre, nous avons étudié la dynamique de population, les caractéristiques moléculaires et l'infectivité au *P. falciparum* chez les anophèles vecteurs. Ainsi, nous avons recherché le niveau de transmission du paludisme à travers le taux d'inoculation entomologique (TIE) dans un contexte de saison sèche de longue durée.

A travers le sixième chapitre, nous avons mené une étude sur la prévalence du paludisme au cours d'une période supposée de très faible, voire d'absence de transmission du paludisme chez les enfants de moins de dix ans. Cela a permis de vérifier s'il existe une corrélation entre la situation entomologique et la situation parasitologique pendant les saisons de très forte aridité.

Enfin, dans le septième chapitre, les différents résultats obtenus au cours de cette thèse ont été discutés et des perspectives ont été formulées pour relever le défi qui est l'atteinte des Objectifs du Millénaire pour le Développement (OMD), à savoir, réduire la morbidité et la mortalité dues au paludisme de 75% d'ici 2015.

## **2. Généralités**

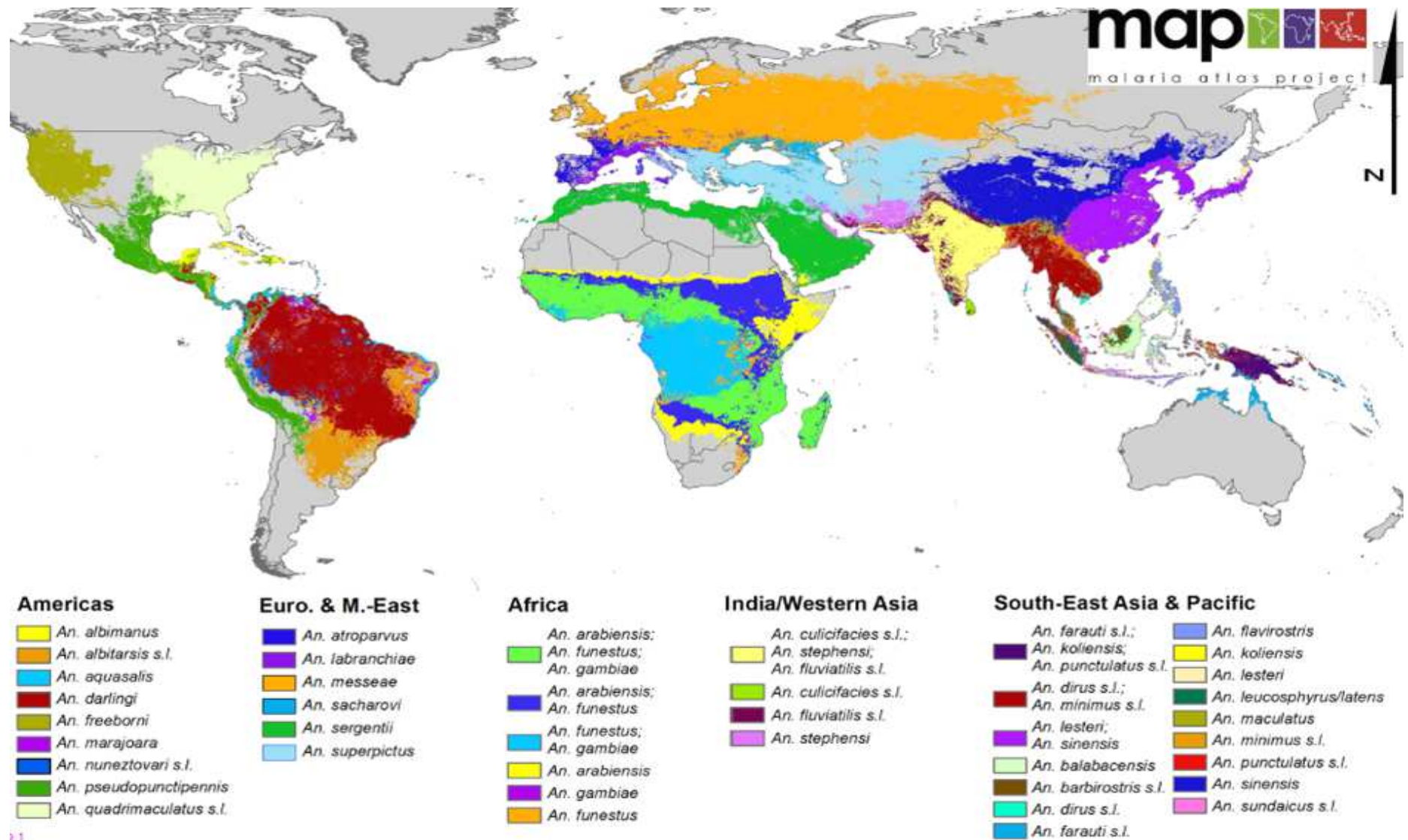
### **2.1. Les vecteurs du paludisme en Afrique**

#### **2.1.1 Les anophèles et leur rôle dans la transmission**

Le paludisme (palus = marais) ou malaria est une parasitose due à un hématozoaire du genre *Plasmodium* et transmise à l'homme par exclusivement des moustiques du genre *Anopheles* (Chabasse, 2002). Ce genre est l'un des plus importants en santé publique et regroupe près de 400 espèces dispersées dans le monde dont environ 70 sont des vecteurs de maladies humaines tels que le paludisme et les filarioses lymphatiques (Bruce-Chwatt, 1987) (Figure 1). Dans la zone intertropicale africaine, plusieurs espèces d'anophèles sont rencontrées, mais 5 d'entre elles sont qualifiées de « vecteurs majeurs » en raison de leur rôle dans la transmission du paludisme : il s'agit de *An. gambiae* s.s. Giles, *An. arabiensis* Patton, *An. funestus* Giles, *An. nili* Theobald et *An. moucheti* (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002 ; Coetzee *et al.*, 2000 ; Gillies & Coetzee, 1987). Par ailleurs, il existe aussi certaines espèces dites vecteurs secondaires qui assurent localement la transmission du paludisme aux côtés des

vecteurs majeurs surtout sur le littoral et en milieu insulaire : *An. melas* sur les côtes lagunaires d'Afrique de l'Ouest, *An. merus* et *An. mascarensis* à Madagascar (Fontenille & Campbell, 1992 ; Pock Tsy *et al.*, 2003). Les vecteurs secondaires assurent moins de 5% de la transmission du paludisme (Mouchet & Carnevale, 2004). Ces espèces « mineures » ne sont pas importantes dans la transmission du parasite à cause d'éléments liés à l'environnement et/ou à leur comportement vis-à-vis de l'homme (facteurs extrinsèques). Ces facteurs, avec des facteurs intrinsèques, comme la compétence vectorielle, interviennent pour minimiser leur rôle vecteur (Billingsley *et al.*, 2006). De très nombreuses infections expérimentales ont été réalisées pour élucider les mécanismes de la résistance et les limites de la compatibilité des populations de vecteurs aux populations de parasites (Boete, 2005). Néanmoins, de grandes différences entre les résultats de laboratoire et ceux de terrain démontrent qu'il y a encore de nombreuses questions sur la co-évolution du moustique et du parasite (Cohuet *et al.*, 2006 ; Cohuet *et al.*, 2008).

Des études sur le comportement trophique et de repos et des analyses cytogénétiques ont permis de caractériser sept (7) espèces jumelles dans le complexe *An. gambiae* (Hunt *et al.*, 1998).



**Figure 1:** Distribution globale des anophèles vecteurs principaux, secondaires et potentiels (Sinka *et al.*, 2012)

### 2.1.2 Le complexe *Anopheles gambiae*

Considéré à l'origine comme une seule espèce, on compte actuellement sept (7) espèces morphologiquement identiques au stade adulte et dont les croisements au laboratoire donnent des mâles stériles (White, 1974, Hunt *et al.*, 1998). Ce sont : *An. gambiae* s.s. (Giles, 1902), *Anopheles arabiensis* (Patton, 1904) ; *An. melas* (Theobald, 1903), *Anopheles merus* (Doenitz, 1902), *Anopheles bwambae* (White, 1985), *Anopheles quadriannulatus* A (Theobald, 1911) et *Anopheles quadriannulatus* B (Hunt *et al.*, 1998). Les anophèles sont des insectes holométaboles dont le cycle de développement est marqué par une phase pré-imaginale aquatique (œufs, larves, nymphes) et une phase adulte (imago). La durée de développement larvaire est très variable. *An. gambiae* s.l. accomplit son développement larvaire en moins de 10 jours en milieu tropical dans les collections d'eau stagnante, temporaires, peu profondes et ensoleillées, faiblement chargées en matières organiques et où la température de l'eau dépasse 30°C. La femelle n'est fécondée qu'une fois dans sa vie, mais les mâles peuvent féconder plusieurs femelles (Craig, 1967). Le cycle de maturation des ovocytes qui débute avec le repas de sang et se termine avec la ponte est dénommé cycle gonotrophique.

D'après des critères cytogénétiques, *An. gambiae* s.s a été scindé en cinq formes chromosomiques « Bamako », « Bissau », « Forêt », « Mopti » et « Savane ». (Coluzzi *et al.*, 1985). Depuis, des techniques moléculaires ont été développées pour identifier les formes « Mopti » et « Savane » ou « Bamako » par RFLP- PCR (Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR) de l'IGS (Favia *et al.*, 1997) ou par PCR de l'ITS (Internal Transcripter Spacer) (Favia *et al.*, 2001). Les formes chromosomiques sont de véritables marqueurs écologiques. La forme « Mopti » adaptée aux inondations et aux rizières de l'Afrique de l'Ouest est souvent associée à une faible endémicité. A partir de 2001, la taxonomie d'*An. gambiae* s.s s'est améliorée avec la division de l'espèce en deux formes moléculaires M et S (Della Tore *et al.*, 2001 ; Gentile *et al.*, 2001) indépendantes des formes chromosomiques. Au Mali par exemple, les formes « Mopti » avaient un profil M et les formes « Savane » et « Bamako » avaient un profil S. Au sud-Cameroun, la forme « Forêt » se repartit en S et M. Le type S est le seul présent en Afrique de l'Est et à Madagascar (Fontenille *et al.*, 2003)

Des sept espèces du complexe, *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* sont les vecteurs les plus importants. Elles sont seules globalement responsables de 90% de la transmission du paludisme dans la zone intertropicale africaine (Robert & Carnevale, 1984).

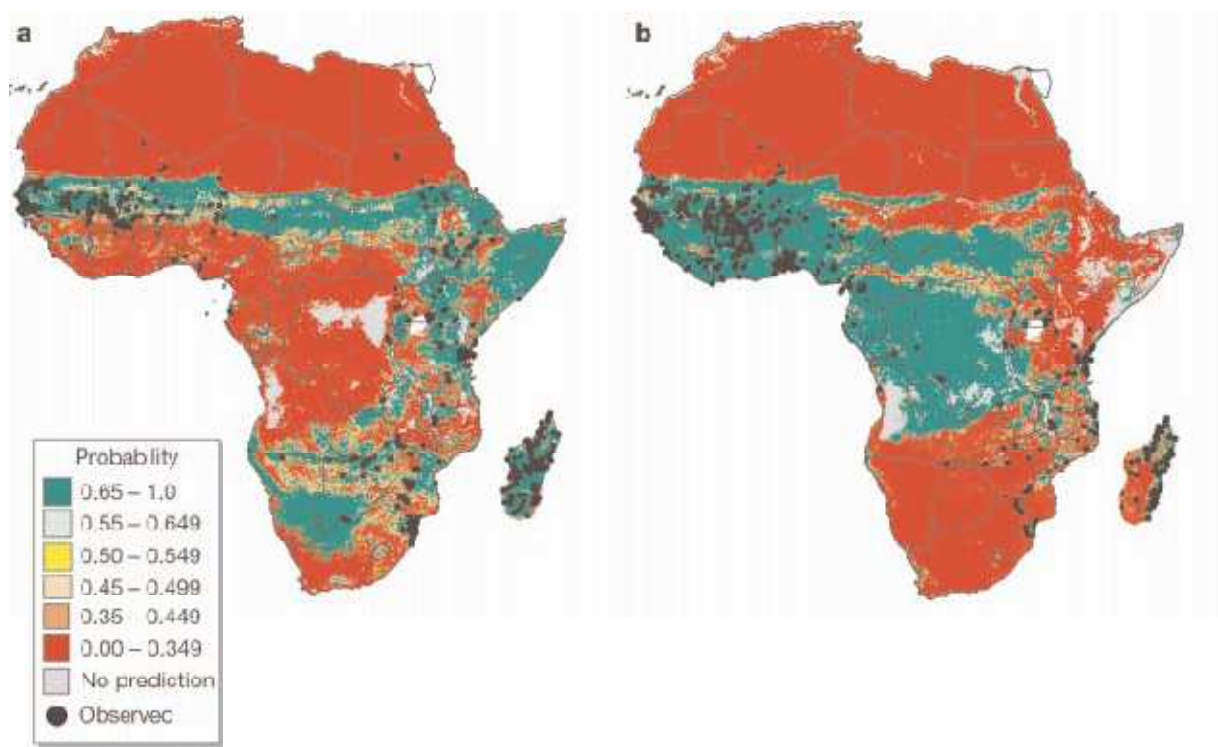
### 2.1.3 Distribution et comportement trophique d'*An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis*

La répartition géographique d'*An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* est liée à des contraintes climatiques et écologiques. En général, *An. gambiae* s.l. occupe la plus grande partie de la Région afrotropicale à l'exclusion de la Corne de l'Afrique et de la péninsule arabique où le vecteur occupe majoritairement la zone de forêt et de savane humide et sèche (Coluzzi, 1993 ; Wondji *et al.*, 2002 ; Touré *et al.*, 1998 ; Dia *et al.*, 2003). Dans le Sahel, il est peu fréquent au-dessus de l'isohyète de 500 m (Faye *et al.*, 1995 ; Julvez *et al.*, 1998). Au sud du 15<sup>e</sup> parallèle, il est rare en Afrique du sud, au Swaziland, au Botswana et en Namibie (Coetzee *et al.*, 1993). Au Mozambique, il est peu fréquent dans le sud, mais largement dominant dans le nord ainsi que sur les côtes tanzaniennes et kényanes (Figure 2). Les femelles d'*An. gambiae* s.s. sont hautement anthropophiles, s'alimentant préférentiellement sur des humains (Coluzzi *et al.*, 1979) en prenant leur repas sanguin à l'intérieur des habitations. Toutefois, en Afrique de l'Ouest, elles peuvent être moins sélectives et se nourrir facilement sur d'autres animaux comme les chevaux et le bétail. Au Burkina Faso par exemple, des spécimens gorgés sur bétail étaient porteurs de sporozoïtes humains, ce qui témoignait de leur éclectisme alimentaire (Choumara *et al.*, 1959).

En ce qui concerne l'espèce *An. arabiensis*, elle vit en sympatrie avec *An. gambiae* dans toutes les zones de savane et de steppe de la Région afrotropicale (Figure 2). Mais contrairement à *An. gambiae*, *An. arabiensis* n'a pas été divisé en formes génétiquement séparées mais les études de biologie moléculaire ont fait ressortir un fort polymorphisme dans et entre les diverses populations. Sur le transect de 4500 km entre le Mozambique et le Soudan, des différences significatives ont été observées dans la fréquence des génotypes dans les populations séparées de plus de 200 km (Donnelly & Townson, 2000). *An. arabiensis* est bien adapté aux climats secs dans le nord du Sahel où il se rencontre jusque dans les oasis de l'Aïr (Niger). Les mécanismes de survie de cette espèce des régions arides restent toujours flous et mal compris. Des études génétiques ont montré que des populations d'*An. arabiensis* persistaient d'une année à l'autre (Taylor *et al.*, 1993 ; Simard *et al.*, 2000). *An. arabiensis* est considéré comme une espèce beaucoup moins anthropophile que *An. gambiae* s.s. Dans la zone sahélo-soudanienne, il prenait plus de 50 % de ses repas de sang sur bœuf. A Madagascar, sa zoophilie dépasse 90 % sur les plateaux ; il se reposait dans les étables (Laventure *et al.*, 1996). Mais au Sénégal, dans les conditions d'accès à l'hôte identiques, *An. arabiensis* prend ses repas sanguins aussi bien sur l'homme que sur le bétail (Diatta *et al.*,

1998). Il existe donc chez cette espèce des différences de comportement assez importantes suivant les régions et les environnements.

En général *An gambiae s.s.*, à cause de son anthropophilie préférentielle, a développé une tendance forte pour l'endophagie et l'endophilie, tandis que le plus zoophile *An. arabiensis* a une tendance plus exophage et exophile. L'exophilie des vecteurs est souvent pointée du doigt comme explication des échecs de la lutte antivectorielle par pulvérisations intradomiciliaires, sans aucune autre précision sur le niveau de cette exophilie, partielle ou totale (Mouchet *et al.*, 2004). A ce propos, il convient de faire la différence entre le comportement naturellement exophile de certaines espèces et l'effet irritant des traitements insecticides domiciliaires au DDT et aux pyréthrinoides. Par ailleurs, le changement d'habitude des populations a aussi une influence sur le comportement des vecteurs du paludisme. Dans les zones arides et chaudes d'Afrique ou pendant les saisons sèches où les gens préfèrent se coucher au dehors, *An. gambiae* tout comme *An. arabiensis* montre une tendance à l'exophagie et à l'exophile.



**Figure 2 :** Distribution de *An. arabiensis* (a) et *An. gambiae* en Afrique (Rogers *et al.*, 2002)

## **2.2. Biologie des anophèles et du plasmodium**

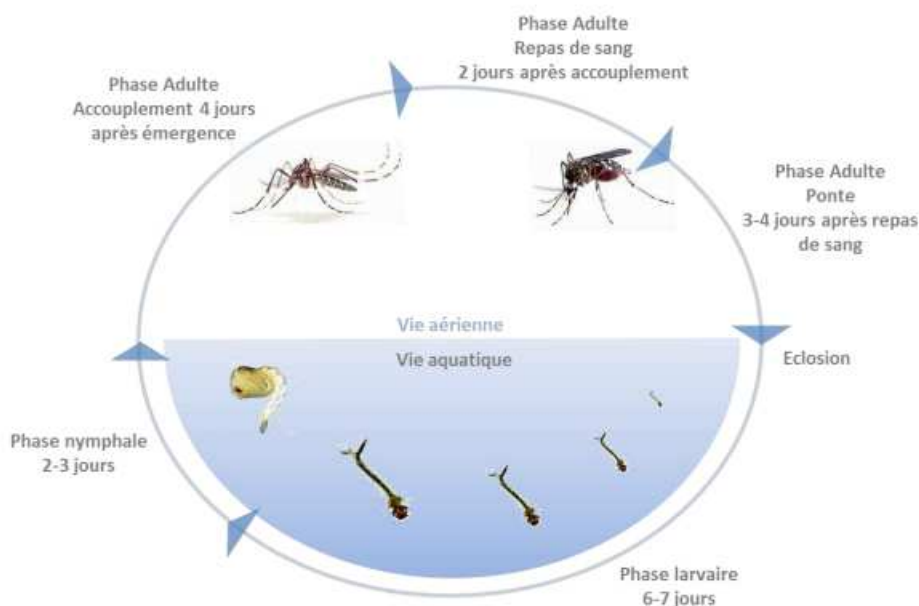
### **2.2.1. Cycle biologique des anophèles**

Les anophèles sont des insectes diptères, holométaboles (à métamorphose complète) qui présentent quatre stades au cours de leur vie. Les trois premiers stades sont aquatiques et préimaginaux (œuf- larve- nymphe). Le dernier stade quant à lui est aérien et correspond à l'adulte ou imago (Mouchet *et al.*, 2004).

L'anophèle femelle adulte se gorge de sang environ tous les 2 ou 3 jours. Ces repas de sang sont obligatoires pour la maturation des ovaires et la ponte des œufs. Les œufs sont pondus à la surface de l'eau par groupe de 100 à 150. Après 2 ou 3 jours, les œufs éclosent et les larves de moustique émergent. La larve d'anophèle vit généralement juste au dessus de la surface de l'eau. Les stades larvaires sont au nombre de quatre. La petite larve qui émerge de l'œuf est appelé larve de stade 1 (L1). Après un ou deux jours, elle se débarrasse de sa cuticule : on dit qu'elle mue, et devient une larve de deuxième stade (L2). Les larves des stades trois et quatre (L3, L4) apparaissent chacune après environ deux jours d'intervalle puis le quatrième stade larvaire se transforme en nymphe (Figure 3).

En région tropicale, le développement aquatique (phase larvaire et phase nymphale) dure environ 8 à 10 jours. La nymphe présente la forme d'une virgule, moins mobile, reste à la surface de l'eau et ne s'alimente pas. C'est au cours du stade nymphal et pendant 2 ou 3 jours, à la température tropicale, que se déroulent les modifications les plus importantes et que l'organisme aquatique se transforme en moustique capable de voler. A la fin du développement nymphal, la cuticule se fend et l'insecte adulte émerge et s'envole (Melkkanovitskaya & Koxloval, 1980).

L'accouplement a lieu peu de temps après l'émergence, généralement autour de trois jours post-émergence. La femelle stocke les spermatozoïdes déposés par le mâle pendant l'accouplement dans la spermathèque. Les spermatozoïdes sont progressivement utilisés après chaque maturation ovarienne liée à une prise de repas sanguin.



**Figure 3 :** Cycle biologique des anophèles (Clément, 1992)

## 2.2.2. Morphologie de *An. gambiae*

### 2.2.2.1. L'œuf

L'œuf de *An. gambiae* est de forme incurvée et mesure environ 0,5 mm de long. Il est muni de deux flotteurs latéraux remplis d'air et est entouré d'une double membrane chorionique. Les œufs de *An. gambiae* contrairement à ceux d'autres moustiques résistent très mal à la dessiccation (Mouchet *et al.*, 2004).

### 2.2.2.2 . La larve

Elle se compose de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. La tête comprend notamment les yeux, les antennes, les soies fronto-clypéales très utilisées pour la diagnose spécifique et les pièces buccales en position verticale qui entourent la bouche. Le thorax est formé de trois segments non individualisés. Il porte des soies particulières très utilisées en taxonomie. L'abdomen cylindrique se compose de neuf segments. Les sept premiers portent notamment des plaques sclérifiées dorsales et des soies palmées caractéristiques des anophèles. Celles-ci contribuent au maintien de la larve juste sous la surface de l'eau. Le huitième segment abdominal porte latéralement une paire de plaques chitineuses particulières, les peignes, et

dorsalement deux orifices respiratoires, les stigmates qui s'ouvrent directement au niveau d'une plaque spinaculaire. L'absence de siphon respiratoire est caractéristique des *Anophelinae*, de sorte que la larve reste parallèle à la surface de l'eau, face dorsale vers le haut. Les stigmates respiratoires sont fermés par des valves lors de la plongée et ouverts en surface pour le renouvellement de l'air du système trachéen. Le dernier segment abdominal porte l'anus, entouré de deux paires de papilles anales. Il porte une plaque sclérifiée, la selle et un certain nombre de soies utilisées en taxonomie. Les larves d'*An. gambiae* mesurent environ 1mm de long au premier stade et 5mm au quatrième (Mouchet *et al.*, 2004).

### **2.2.2.3. La nymphe**

Elle est composée de deux parties : le céphalothorax et l'abdomen :

- le céphalothorax, résulte de la coalescence d'une tête non individualisée et d'un thorax globuleux. Il porte deux trompettes respiratoires qui correspondent aux stigmates antérieurs du thorax. Ces trompettes à extrémités hydrophobes traversent la surface de l'eau et assurent la respiration aérienne de la nymphe ;
- l'abdomen comprend huit segments bien visibles dont le huitième porte une paire de palettes natatoires permettant des mouvements brusques et saccadés (Malvy, 2000).

### **2.2.2.4. L'adulte**

L'adulte comprend trois parties distinctes :

- la tête : elle porte deux gros yeux composés, une paire d'antennes de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle. La trompe ou proboscis est formée postérieurement du labium replié en gouttière entourant six fins stylets, vulnérants chez la femelle soit une paire de mandibules, une paire de maxilles, l'hypopharynx et le labre (Malvy, 2000) ;
- le thorax : il est formé de trois métamères portant chacun une paire de pattes. Le prothorax est très réduit. C'est sur le mésothorax très développé et renfermant de puissants muscles alaires que s'insère une paire d'ailes. Sur le mésothorax est placée une paire d'haltères ou balanciers qui jouent un rôle dans l'équilibration du vol. Le thorax est composé de plaques chitineuses (tergites dorsaux, pleurites latéraux, sternites latéraux) à nomenclature et chétotaxie bien définies, utilisées en taxonomie.

Les ailes des *Anophelinae* présentent de nombreuses écailles claires et sombres dont l'arrangement sur le rebord costal et sur les cellules délimitées par les nervures alaires, est très utilisé en systématique. Les parties longues et fragiles sont formées de neuf articles : la hanche ou coxa, le trochanter, le fémur, le tibia et les tarses formées de cinq articles dont le dernier porte une paire de griffes enserrant deux pulvilles et une soie médiane appelée empodium ;

- l'abdomen : il est constitué de dix segments dont sept sont bien visibles. Chaque segment est constitué d'une paire de plaque chitineuse dorsale (le tergite) et d'une plaque chitineuse ventrale (le sternite) reliées par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de l'alimentation sanguine et la maturation des ovaires. Les trois derniers segments portent l'anus et les appendices génitaux ou genitalia. Chez la femelle, ces derniers sont simples. Le neuvième segment porte deux cerques dorsaux. Le vagin est ventral et fermé par deux lèvres. Chez le mâle, peu après la mue imaginale, les trois derniers segments subissent une rotation définitive de 180°. Les neuvième et dixième segments constituent l'hypopygium qui se compose d'une paire de forcipules articulés, d'une paire de gonophyses à la base de ces dernières et d'un pénis médian. La forme et la chétotaxie de l'hypopygium sont des caractères spécifiques (Malvy, 2000).

### **2.2.3. Cycle de développement du Plasmodium**

L'hématozoaire responsable du paludisme est du genre *Plasmodium*. Il appartient à l'embranchement des *Sporozoa* et à l'ordre des *Hæmosporida*. C'est un parasite intracellulaire obligatoire des vertébrés. Son cycle biologique est complexe et nécessite l'organisme humain, où il se multiplie sous des formes asexuées, et l'organisme de l'anophèle femelle où a lieu la reproduction sexuée (Figure 4).

#### **2.2.3.1. Cycle chez l'homme**

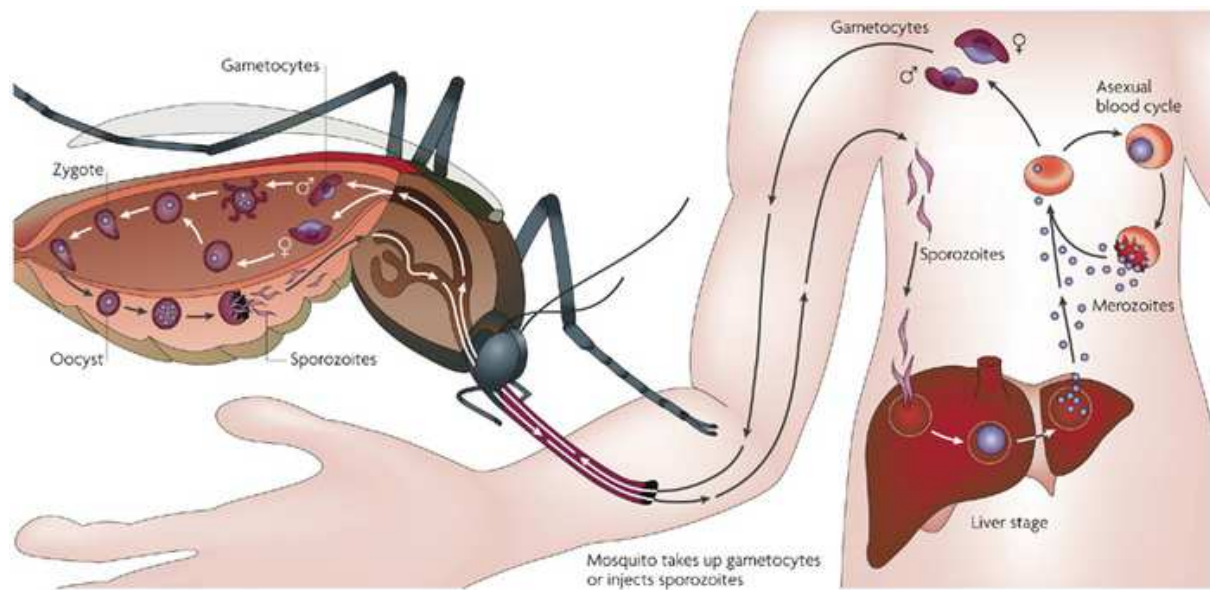
Le cycle s'enclenche dès lors qu'un moustique femelle dont les glandes salivaires contiennent une forme du parasite appelée sporozoïte, pique l'homme lors d'un repas sanguin. Le moustique aspire un peu de sang tandis qu'il injecte à sa victime quelques sporozoïtes qui circulent brièvement dans le sang avant de parvenir au foie. A ce niveau, les sporozoïtes

pénètrent dans les hépatocytes. Certains vont y rester “cachés” pour une période variable allant de quelques jours à plusieurs années pour certaines espèces. D’autres passent par une phase de multiplication asexuée dans les cellules hépatiques : ils se développent et se multiplient, donnant ainsi naissance à des centaines de milliers de parasites.

Ces parasites quittent ensuite le foie pour regagner le sang circulant où ils envahissent les globules rouges. Leur multiplication aboutit à un éclatement des globules rouges, libérant de nombreux parasites. Cette phase de multiplication, également asexuée est responsable des symptômes de la maladie chez l’homme ; la destruction des globules rouges et la libération des parasites provoquent la fièvre. De plus, ces corpuscules libérés vont à leur tour envahir de nombreux globules rouges et relancer un nouveau cycle, expliquant ainsi les fièvres cycliques. Lors de leur passage dans la circulation sanguine, et après plusieurs cycles, certains de ces parasites peuvent également évoluer vers une forme sexuellement prédéterminée : les gamétocytes mâles et femelles. Ceux-ci circulent librement dans le sang sans provoquer de symptômes cliniques mais ils sont infectieux pour le moustique qui viendra piquer la personne infectée lors d’un prochain repas.

#### **2.2.3.2. Cycle chez l’Anophèle**

Une fois ingérés par le moustique, les gamétocytes migrent dans son tube digestif pour donner naissance à des gamètes mâles et femelles. Il s’ensuit un processus de fécondation et la constitution d’un oocyste. Les oocystes se transforment en sporozoïtes qui migrent dans les glandes salivaires du moustique dans l’attente du prochain repas de l’insecte. La figure 4 illustre ce cycle aussi bien chez l’anophèle que chez l’homme.



**Figure 4 :** Cycle de développement du Plasmodium (Su *et al.*, 2007)

## 2.3. Cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* : évolution du concept

### 2.3.1. Définition des terminologies fécondité et fertilité chez les femelles de *An. gambiae*

Un moustique femelle ne copule qu'une fois en général. Habituellement, après la copulation, elle a besoin d'un repas de sang pour la maturation de ses œufs. Ce repas sanguin est généralement renouvelé tous les deux à trois jours. A chaque ponte, 80 à 300 œufs sont déposés un à un à la surface de l'eau par la femelle (Bates, 1949; Yaro *et al.*, 2006) qui peut pondre entre 800 et 1000 œufs au cours de sa vie (Rodhain & Perez., 1985). La fécondité, c'est-à-dire le nombre d'œufs pondus par portée, varie selon les espèces, l'âge, la saison, etc... Elle dépend aussi du nombre de repas sanguin pris par la femelle. Ainsi, selon les travaux de Carnevale (1979), 17 œufs ont été émis par une femelle n'ayant pris qu'un seul repas, 89 à 110 œufs ont été déposés par des femelles s'étant nourries deux fois. Certaines études indiquent que les régimes riches en protéines améliorent la production des œufs chez les moustiques et les rendent plus fécondes (Lang, 1978).

Par ailleurs, le terme de fertilité est souvent utilisé pour faire allusion au devenir des œufs pondus par le moustique femelle. Et à cet effet c'est habituellement le taux d'éclosion qui donne le reflet de la fertilité des moustiques. Dans la nature, l'éclosion des œufs se produit en réponse à une baisse de tension de l'oxygène de l'eau, sous l'action des microorganismes

présents dans l'eau stagnante des gîtes (Foster, 1980). En région tropicale, l'éclosion des œufs a lieu au bout de 2 à 3 jours (Rodhain & Perez, 1985). Armstrong et BransBay-William (1961) ont montré que pour les œufs de *An. gambiae* incubés immédiatement dans l'eau après la récolte de la ponte, le taux d'éclosion est de 74% après 4 jours. Selon certains auteurs, l'éclosion se produit généralement 24 à 36 heures après la ponte, mais elle peut être retardée par des baisses de température (Holstein, 1949) ou la nature de l'eau (Yaro *et al.*, 2006). Outre le taux d'éclosion, la viabilité des œufs pondus est aussi explorée à travers leur développement larvaire et l'achèvement de la vie aquatique puis l'émergence des imagos.

### 2.3.2 Evolution du concept de cycle gonotrophique

Le cycle gonotrophique des insectes vecteurs d'affections parasitaires conditionne la fréquence de leurs contacts avec les hôtes vertébrés et sa connaissance constitue un élément fondamental de l'analyse épidémiologique d'une maladie transmissible. La fréquence de ces contacts est, en effet, tributaire de nombreux facteurs mais elle dépend essentiellement du temps nécessaire à la digestion du repas de sang qui s'accompagne de la maturation des ovaires puis de l'oviposition, laquelle sera suivie de la prise d'un nouveau repas de sang.

Mais, les premières études consacrées au cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (s.l) ont procuré des informations contradictoires dues au fait, qu'à l'époque, le problème du complexe *gambiae* n'était pas résolu et que les interprétations du cycle étaient différentes.

Pour Covell *et al.* (1953), puis Gillies *et al.* (1961), le cycle correspond au laps de temps s'écoulant entre le repas de sang et la ponte. Dans ces conditions, Muirhead – Thomson (1948) note qu'au Nigéria les femelles pondent la seconde nuit après l'alimentation sanguine, tandis que pour Hocking et Mac Innes (1948), au Kenya, l'intervalle entre le repas et la ponte serait de 4,75 jours.

Gillies (1953), en Tanzanie, remarque que le cycle peut varier de 2 à 3 jours selon la température. Mais cet auteur reconnaît introduire une source potentielle d'erreur dans son expérimentation car le maintien en captivité des femelles gravides supprime la nécessité du vol à la recherche des lieux de ponte. Ce problème du comportement de vol avait été envisagé par Lumsden (1951) qui, en Ouganda, estimait qu'environ 24 heures devraient s'écouler entre le repas et la ponte mais qu'un nouveau délai de 24 heures séparait cette ponte du repas suivant. Cette conception est très intéressante car elle prend pour définition du cycle le temps séparant deux repas et cette idée a ensuite, été adoptée par Detinova (1963).

Toutefois, c'est la définition proposée par Beklemishev (1940) qui est actuellement la plus généralement admise (Le Berre, 1966 ; Subra, 1972 ; Brengues & Coz, 1973 ; Germain *et al.*, 1974 ; Carnevale *et al.*, 1979). Pour Beklemishev, le cycle gonotrophique définirait le délai séparant l'émergence de la première ponte dans le cas des femelles nullipares, puis deux ovipositions successives dans le cas des femelles parcs. Beklemishev (1940) et Detinova (1963) divisent ce cycle en trois phases bien distinctes :

- La recherche de l'hôte par la femelle néonate ou la femelle à jeun venant de pondre ;
- La digestion du sang ingéré et la maturation ovarienne ;
- La recherche d'un gîte de ponte favorable par la femelle gravide et le dépôt des œufs.

#### **2.3.2.1. Recherche et pique de l'hôte**

Le moustique femelle préfère une température située entre 15 et 30°C associée à un degré d'humidité relativement élevé. Ceci explique l'activité classiquement nocturne de nombreux moustiques, qui par ailleurs, supportent mal la dessiccation. Les femelles sont spécialement attirées par certaines odeurs en provenance de l'hôte : sueur, odeur propre de la peau, acides aminés, stéroïdes, urine .... Il faut également noter que le CO<sub>2</sub> (dioxyde de carbone) expiré par l'hôte jouerait un rôle considérable quant au déclenchement de l'envol des moustiques dans une pièce. Les œstrogènes dans les urines jouent également un rôle indiscutable : les femmes seraient plus piquées au milieu du cycle menstruel. D'autre part, la température et l'humidité de l'hôte peuvent également jouer un rôle net dans l'orientation du moustique vers son hôte. L'hyper-transpiration de l'hôte joue de la sorte un facteur attractif. Il faut également signaler que les sujets anhidrotiques n'auraient pas la tendance à être piquées (Cleenewerck et Frimat, 2004). Des travaux (Cork & Park, 1996 ; Knols & De Jong, 1996) ont montré que la présence de la microfaune bactérienne de la peau constituent des facteurs d'attractivité, montrant la spécificité d'*An. gambiae* s.l pour l'homme. La température du corps peut aussi jouer un rôle important. Plus la température est élevée, plus le moustique aura tendance à piquer l'hôte. S'il semble que l'envol du moustique, par une augmentation de CO<sub>2</sub>, ce sont essentiellement les facteurs olfactifs qui guident le moustique vers son hôte. Ce n'est que tout près de l'hôte que le système visuel du moustique entre en jeu (à moins de 1,5 mètre). La

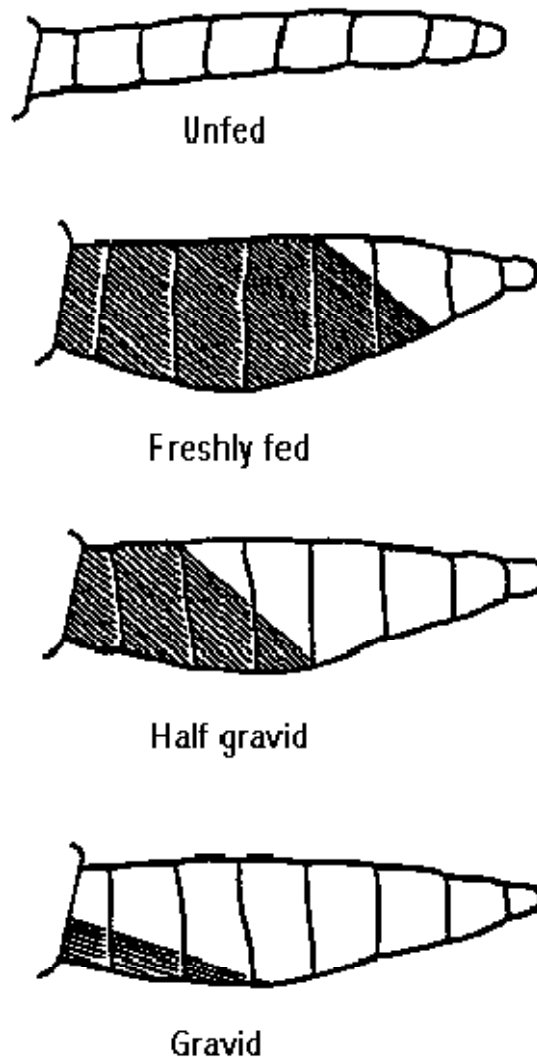
température et le degré d'hydratation de la peau jouent un rôle pour la pose elle-même du moustique sur la peau (Cleenewerck & Frimat, 2004).

D'une façon classique, la piqûre d'une femelle d'anophèle se fait en une seule fois et dure 2 à 3 minutes au cours desquelles le moustique femelle enfonce ses stylets à travers la peau, et inocule, via l'hypopharynx, quelques milligrammes de salive qui contient de multiples substances allergisantes. Le sang de l'hôte est aspiré grâce au labium ( $4-10\text{mm}^3$ ) (Cleenewerck & Frimat, 2004). De façon générale, la femelle du moustique prélève son repas de sang d'un seul coup, mais il peut être interrompu et fractionné si l'insecte est dérangé. Ces repas « interrompu » étaient considérés comme des comportements atypiques jusqu'au moment où certains rapportent que 15 % des *An. gambiae* pouvaient se nourrir sur au moins deux personnes successivement (Kulkarni & Panda, 1984 ; Eldin de Pecoulas *et al.*, 1996).

#### **2.3.2.2. Digestion et maturation ovarienne**

Après le repas de sang, la femelle se repose le plus souvent près du sujet sur lequel elle s'est nourrie. Le sang absorbé se concentre, devient noir et exsude des produits aqueux pendant 1 à 2 heures. Pendant la digestion, les ovocytes grossissent jusqu'à occuper la plus grande partie de l'abdomen qui paraît blanc par transparence. Il est facile de suivre à l'œil nu l'évolution de l'abdomen pendant la digestion du sang. Suivant leur état de réplétion, on classe les spécimens en femelles « à jeun » ou non gorgées, en femelles gorgées (abdomen rouge du fait du sang frais ingéré), en femelles semi-gravides (abdomen noirâtre contenant du sang en digestion, avec la partie apicale blanche du fait du développement des ovaires) et femelles gravides (abdomen blanc et gonflé) (Figure 5).

La digestion du sang comprend une phase initiale au cours de laquelle l'eau et le sérum sont éliminés, soit près de 80% de repas de sang. La seconde phase comprend la digestion des protéines par les enzymes protéolytiques. Lorsque leur action le permet, ces enzymes s'attaquent aussi aux agents infectieux et parasites contenus dans le sang. La digestion de sang se réalise dans la membrane péritrophique qui joue un rôle dans la « sélection » des agents pathogènes transmissibles.



**Figure 5 :** Aspects de l'abdomen chez un anophèle femelle

### 2.3.2.3. Recherche de lieu de ponte

La recherche du lieu de ponte constitue la dernière phase. Sa durée est fonction de la distance séparant le lieu de piqure du gîte. Chez la plupart des espèces d'anophèles, l'oviposition a lieu principalement en fin d'après midi ou au crépuscule (Haddow & Ssenkubuge, 1962 ; Brun, 1973). Les différentes espèces d'anophèles exploitent une grande variété de collections d'eau : eau courante rapide (*An. nili* en Afrique ; *An. minimus* en Asie du Sud-Est), eau courante lente (*An. moucheti* en Afrique centrale ; *An. darlingi* en Amérique latine), surfaces stagnantes ensoleillées (complexe *An. gambiae* en Afrique), marais à végétation dressée (*An. funestus* en Afrique ; *An. albimanus* en Amérique centrale), collections d'eau des sous-bois (*An. dirus* et *An. balabacensis* en Asie du Sud-Est), eaux saumâtres côtières (*An. sundaicus*

en Asie du Sud-Est ; *An. malas* et *An. merus* en Afrique et *An. aquasalis* en Amérique du Sud) (Mouchet *et al.*, 2004).

Le choix du site de ponte est un élément du comportement de chaque espèce. Muirhead-Thompson (1948), en Sierra Leone, avait montré que si des surfaces ensoleillées étaient recouvertes d'un écran végétal, elles n'étaient pas utilisées pour les pontes d'*An. gambiae*. Très peu d'évolutions ont été notées dans l'étude des déterminants des sites de ponte. Mais il faut cependant retenir que chaque espèce occupe certains types de gîtes larvaires, soit spécialisés, soit couvrant un large éventail de situations écologiques, en particulier du fait de l'anthropisation de l'environnement. La présence de gîtes favorables détermine la distribution spatiale des différentes espèces, et dans une certaine mesure, leur comportement (Mouchet *et al.*, 2004).

La ponte étant sous le contrôle du système nerveux, elle peut être retardée quand les conditions seront défavorables : l'absence d'eau, le froid et le manque de spermatozoïdes inhibent l'ovulation et la ponte. En absence de gîte de ponte appropriée, les œufs et donc les larves d'*An. gambiae* sont souvent retrouvés dans les eaux extrêmement polluées par les matières organiques (Sattler *et al.*, 2005).

## **2.4. Ecologie et comportement des anophèles**

### **2.4.1. Ecologie larvaire**

Les différentes espèces d'anophèles exploitent une grande variété de collections d'eau : eaux courantes rapides (*An. nili* en Afrique, *An. minimus* en Asie du sud-est), eaux courantes lentes (*An. moucheti* en Afrique centrale, *An. darlingi* en Amérique latine), marres résiduelles de décrues (*An. culicifacies* en Asie, *An. pseudopunctipennis* en Amérique latine), surfaces stagnantes ensoleillées (complexe *An. gambiae* en Afrique), marais à végétation dressée (*An. funestus* en Afrique, *An. albimanus* en Amérique latine), collections d'eau des sous-bois (*An. dirius* et *An. balabacensis* en Asie du sud-est), eaux saumâtres côtière (*An. sundaicus* en Asie du sud-est, *An. melas* et *An. merus* en Afrique, *An. aquasalis* en Amérique latine), et collections d'eaux à l'aisselle des Broméliacés (s.g *Kerteszia*). L'évolution saisonnière de la végétation permet à certaines espèces de se succéder dans le temps. Dans les rizières par exemple, les espèces du complexe *An. gambiae*, héliophiles, pullulent lors de la mise en eau et du repiquage ; avec la croissance du riz, elles sont remplacées par des espèces qui cherchent

l'ombre et l'abri d'une végétation dressée : *An. pharoensis* en Afrique de l'ouest, *An. funestus* au Madagascar par exemple.

Le choix du site de ponte est un élément du comportement de ponte de chaque espèce. Il y a un demi-siècle, Muirhead-Thompson (1947), en Sierra Leone, que si l'on recouvrait d'un écran végétal les surfaces ensoleillées, elles n'étaient plus utilisées pour les pontes de *An. gambiae*. On a peu progressé dans l'étude des déterminants des sites de pontes. Il faut retenir que chaque espèce occupe certains types de gîtes, soit spécialisés, soit couvrant un large éventail de situations écologiques, en particulier du fait de l'anthropisation de l'environnement. La présence de gîtes favorables détermine la distribution spatiale des différentes espèces et, dans la mesure du possible, leur environnement. Dans le sud-est asiatique par exemple, le paludisme sévit dans les collines boisées ou dans des régions boisées où les vecteurs colonisent les ruisseaux souvent ombragés *An. minimus* et des collections d'eau dans le sous-bois pour *An. dirus* ; il y a peu ou pas de paludisme dans les plaines rizicoles où ces vecteurs n'existent pas parce qu'ils n'y trouvent pas des gîtes larvaires de leur préférence. En Afrique au contraire, *An. gambiae* ou *An. arabiensis* héliophiles sont présents partout à l'exception du couvert forestier et des zones de haute altitude (plus de 2000 mètres) car leurs gîtes larvaires ensoleillés sont peu spécialisés et ont une grande amplitude écologique, allant de l'empreinte de pas à la rizière ; le paludisme y est ubiquiste.

#### **2.4.2. Ecologie et comportement des anophèles adultes**

A l'exception des *Kerteszia* d'Amérique latine qui sont diurnes, les anophèles ont une activité nocturne (du coucher au lever du soleil) ; des agressions, de jour, dans les maisons et dans le sous-bois, ont été fréquemment signalées, mais il s'agissait de comportements atypiques, quelques fois dus à l'effet d'intrusion (Germain *et al.*, 1974).

Certaines espèces piquent en début de nuit, mais la plupart des vecteurs majeurs attaquent entre 23h et 3h, en revenant de ponte. Un certain nombre de spécimens, en particulier les femelles nullipares qui ne sont pas retardées par la ponte, piquent en début de nuit. L'heure de piqûre, comme tous les éléments du comportement des anophèles, présente de grandes différences d'une population, voire d'un individu, à l'autre, d'un site à l'autre, même d'une saison à l'autre.

Les anophèles qui se nourrissent sur l'homme sont dits anthropophiles, et s'opposent à ceux qui se nourrissent sur différentes espèces animales, dits zoophiles. On connaît quelques espèces strictement anthropophiles comme *An. gambiae s.s.* en Afrique, ainsi que *An. dirus* A et D dans les forêts d'Asie du sud-est. Beaucoup plus fréquentes sont les espèces strictement zoophiles, exclues de ce fait de la transmission ; certains sont néanmoins les hôtes fréquents des maisons comme *An. rufipes* en Afrique de l'ouest. Mais beaucoup d'espèces se nourrissent sur l'homme et sur le bétail, en fonction des disponibilités des hôtes, même si elles marquent une certaine préférence pour l'un ou pour l'autre. Les bases génétiques du comportement trophique ne sont pas encore clairement définies. L'échantillonnage a une très grande importance pour établir le régime alimentaire d'une espèce. Suivant que l'on récolte les spécimens dans les maisons, dans les abris d'animaux ou à l'extérieur, on peut obtenir des informations très différents. Les résultats des tests de précipitine ne doivent être interprétés qu'en fonction des sites de prélèvement. Beaucoup d'auteurs se limitent à la détermination des tendances localement dominantes.

Le repas de sang peut être pris dans la maison, on parle de comportement endophage, ou à l'extérieur de l'habitation pour les anophèles exophages. Après leur repas de sang, certains restent dans la même maison pendant toute la durée du cycle gonotrophique. Ils sont dits endophiles. Au contraire, d'autres espèces quittent rapidement les maisons pour gagner des refuges extérieurs. Ils sont dits exophiles. Entre ces deux comportements extrêmes, illustrés dans le premier cas par *An. minimus* A, et pour le deuxième par *An. dirus* A, en Asie du sud-est, on rencontre tous les intermédiaires, quelques fois au sein de la même espèce. Dans les zones arides et chaudes où les gens se couchent dehors, un nombre important de vecteurs va chercher abri dans les maisons, pendant la journée. C'est le cas de *An. gambiae s.l.* dans le Sahel du Sénégal (Faye *et al.*, 1997) où il a peu de site de repos pour les anophèles. Le type d'habitat joue un rôle important ; les maisons sans murs des Amérindiens d'Amazonie et les huttes de cultures d'Asie par exemple, favorisent l'exophilie de *An. darlingi* et de *An. dirus* respectivement. On a souvent rendu l'exophilie des vecteurs responsables des échecs de la lutte antivectorielle par pulvérisations intradomiciliaires, mais on manque de précision sur le niveau de cette exophilie, totale ou partielle. A ce propos, il faut faire la différence entre le comportement naturellement exophile de certaines espèces et l'effet irritant des traitements insecticides domiciliaires au DDT et aux pyréthrinoides qui provoque l'exode de toute la faune culicidienne hors des maisons.

Les autres éléments de l'écologie et du comportement des vecteurs ne revêtent souvent qu'un intérêt secondaire par rapport aux comportements trophiques et/ou sexuels.

## **2.5. Quelques indicateurs de la survie chez *An. gambiae***

La longévité des moustiques adultes est fonction de plusieurs facteurs dont la température, l'humidité relative, la disponibilité et la qualité de nourriture (Anonyme, 1972). La présence également des prédateurs dans le site d'oviposition augmente la mortalité des adultes (Service, 1977). La durée de vie varie également selon le sexe et d'une espèce à l'autre. Dans les meilleures conditions tropicales, la durée de vie des imagos est de 3 à 4 semaines. En condition de laboratoire, Diop *et al.* (1998) ont montré une durée moyenne de 16 jours pour l'espèce d'*An. arabiensis*, avec un maximum de 20 jours chez les femelles et de 43 jours chez les mâles. Si les exsudats et les nectars constituent la seule source alimentaire des mâles et que leur survie en dépend, les femelles peuvent par contre utiliser le repas de sang pour la survie et la maturité des ovocytes (Muirhead-Thomson, 1951 ; Gillies et De Meillon, 1968 ; Beier, 1996). De façon générale, les moustiques de petite taille ont une quantité moindre de réserve et vivent moins longtemps avec une fécondité réduite (Takken *et al.*, 1998). Certains travaux (Fernandes & Briegel, 2004) ont montré que la longévité maximale des femelles d'*An. gambiae* nourries quotidiennement avec le sang et au jus sucré a été de 54 jours contre 20 jours pour le jus sucré seulement.

## **Chapitre 2 :**

---

### **Matériel et méthodes**

Le présent chapitre fait le point de la démarche méthodologique adoptée et présente l'inventaire du matériel utilisé pour atteindre les objectifs fixés. Pour faciliter la compréhension, nous avons présenté les différentes méthodes par type d'étude.

## **1. Impact d'une longue rétention des œufs sur les performances de reproduction, les comportements trophique et d'oviposition des femelles gravides d'*Anopheles gambiae* s.l**

L'étude comprend une série de simulations visant à explorer les conséquences éventuelles d'un allongement du cycle gonotrophique sur le potentiel de reproduction, la survie, l'activité trophique et le comportement de ponte chez les anophèles vecteurs du paludisme.

### **1.1. Caractéristique de la population d'*An. gambiae* étudiée**

Les différentes simulations ont été réalisées avec une population d'*An. gambiae* de la souche sensible de référence « Kisumu ». Cette souche est originaire du Kenya. Elle est élevée et conservée au Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) (comme dans tout autre laboratoire d'entomologie du paludisme) depuis des années où elle sert de population sensible standard pour les bio-essais et autres essais entomologiques.

### **1.2. Techniques et conditions d'élevage au laboratoire**

L'insectarium du CREC est constitué d'une salle pour l'élevage des différents stades pré imaginaires et d'une autre pour les adultes d'*An. gambiae* s.l.. Pour un bon élevage, des conditions normales de température et d'humidité doivent être constamment dans la salle des adultes. La température et l'humidité relative ont été relevées tous les jours grâce à un thermo hygromètre :  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  et  $72 \pm 4\%$ . L'humidité relative est maintenue à l'aide des serpillières trempées dans l'eau et posées sur les cages des adultes. Dans la salle des larves, la photopériode est fixée à 12h : 12h LD grâce à un éclairage à 2 ampoules de 100 W dont le fonctionnement est réglé avec une minuterie programmable (Photo 1). Une fois que les conditions d'élevage des anophèles ont été mises en route, les différentes étapes de l'étude ont démarré.



**Photo 1:** Photo montrant le conditionnement des larves au larvarium du CREC

### **1.3. Capacité de ponte d'*An. gambiae* privé de pondoir et de repas sanguin**

Les femelles Kisumu âgées de 5 jours sont gorgées quelques heures grâce à des lapins immobilisés sur la cage de moustiques par un dispositif élaboré à cet effet (Photo 2). Les femelles ayant effectivement pris leur repas sanguin sont retirées, placées dans d'autres cages et sont gorgées de nouveau 2 jours plus tard, après digestion complète du premier repas de sang suivant le même protocole. Les femelles ayant pris les deux repas sanguins sont placées par lot et isolées, puis mises en ponte individuelle suivant différentes modalités :

- Lot 1 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle immédiatement après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 2 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 5 jours après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 3 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 10 jours après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 4 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 15 jours après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 5 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 20 jours après le deuxième repas sanguin ;

- Lot 6 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 25 jours après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 7 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 30 jours après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 8 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 35 jours après le deuxième repas sanguin ;
- Lot 9 : les femelles sont isolées et mises en ponte individuelle 40 jours après le deuxième repas sanguin.

Pour la ponte individuelle, une femelle d'*An. gambiae* est transférée de sa cage dans un gobelet blanc recouvert de tulle moustiquaire. A la base de chaque gobelet est déposé un tampon de coton imbibé d'eau sur lequel repose du papier Whatman découpé suivant un cercle de 5 cm de rayon. Ce dispositif sert de pondoir aux moustiques. Sur le tulle moustiquaire, est déposé du coton imbibé de jus de miel à 10% qui est renouvelé tous les jours. Cela sert de nourriture pour les femelles gravides en expérimentation.

Pour les femelles du lot 1, la durée du cycle gonotrophique est notée, ce qui signifie que les pondoirs de ce lot n'ont été retirés que lorsque ces moustiques ont pondu. Par contre, les pondoirs des lots 2 à 9 ont été enlevés 3 jours après l'isolement et la mise en ponte des femelles gravides. Nous avons considéré que ce délai serait suffisant pour que le moustique s'adapte à son milieu de ponte et y dépose ses œufs. Les œufs pondus par les femelles de tous les lots ont été comptés en prenant soin de noter le nombre d'œufs embryonnés sur chaque pondoir. Pour ce décompte, le papier whatman portant les œufs est retiré du pondoir et est examiné à une loupe binoculaire Leica MZFLIII connectée à une caméra à forte résolution (DC300F). Le nombre total d'œufs de chaque pondoir est compté tout en vérifiant à la loupe la présence d'embryon dans les œufs afin de calculer le nombre d'œufs embryonnés. Les moustiques ayant pondu sont ensuite disséqués pour vérifier une quelconque rétention d'œufs après la ponte.



**Photo 2:** photo montrant la technique de gorgement des femelles *An. gambiae*.

#### **1.4. Viabilité des œufs dans un contexte de rétention d'œufs**

Chaque pondoir est déposé dans un bac contenant de l'eau qui a servi de gîte artificiel pour l'éclosion des œufs. L'eau utilisée est celle du robinet chauffée pour neutraliser les traces éventuelles de chlore puis refroidie. La quantité d'eau utilisée pour l'incubation des œufs est de 450 ml pour 100 œufs. Après 48 heures, les larves écloses sont comptées par pipetage et le taux d'éclosion est évalué dans chaque cas de rétention (Jo, J5, J10, J15, J20, J25, J30, J35 et J40). Les taux d'éclosion sont comparés suivant chaque modalité de rétention afin d'évaluer l'impact de la durée de rétention sur la qualité et la viabilité des œufs d'anophèles. L'association entre le taux d'embryons et le taux d'éclosions a ensuite été mise en évidence dans chaque cas pour apprécier l'évolution des deux paramètres (taux d'éclosions et taux d'embryons) au fur et à mesure que le nombre de jours de rétention chez les femelles gravides d'anophèles augmente.

#### **1. 5. Emergence des adultes issues des œufs retenus dans les ovaires chez les femelles gravides d'*An. gambiae***

Les larves ayant éclos des œufs pondus par les femelles gravides privées de pondoir sont quotidiennement suivies jusqu'à leur émergence. Au terme de la présente activité, le taux d'émergence à chaque modalité de rétention est calculé afin d'évaluer l'impact de la durée de rétention des œufs sur l'émergence des imagos.

### **1.6. Activité trophique chez les femelles gravides d'*An. gambiae***

Pour vérifier si les femelles gravides continuent de prendre leur repas sanguin, nous avons disposé de 4 cages de 40 femelles ayant reçu deux repas sanguins et âgées de 7 jours. Ces femelles sont gorgées chaque 2 jours pendant toute une nuit sur des cobayes placés de 19 heures à 7 heures. Chaque fois que les cobayes sont exposés aux moustiques, toutes les lampes d'éclairage sont éteintes afin d'assurer l'obscurité dans la salle d'expérimentation. Après chaque nuit de repas sanguin, les femelles non gorgées sont retirées des cages et le taux de gorgement est déterminé.

### **1.7. Espérance de vie des femelles gravides d'*An. gambiae***

Afin de vérifier l'impact de la rétention des œufs sur l'espérance de vie des femelles d'*An. gambiae* en attente de ponte, 4 cages de 40 femelles gravides âgées de 7 jours sont suivies tous les jours jusqu'à ce que toutes les femelles meurent. Le lot de femelles témoins est constitué de 2 cages de 40 femelles non gravides âgées de 7 jours. Les femelles des cages témoins et celles des cages tests sont nourries quotidiennement au jus de miel à 10%. Tous les jours, les femelles mortes sont comptées dans chaque cage pour le calcul du taux quotidien de mortalité.

### **1.8. Analyse des données**

L'influence de la rétention sur la ponte des moustiques a été appréciée en utilisant le test de Kruskal Wallis. L'impact de la durée de rétention sur l'embryonnement, l'éclosion et l'émergence des œufs a été respectivement déterminée à travers un modèle de régression logistique binaire accompagnée de l'analyse de la déviance.

NB : Les analyses ont été effectuées avec le logiciel R-2.15.2 (R Core Team, 2012).

## **2. Répartition spatio-temporelle des stades préimaginaux et diversité des habitats larvaires des moustiques**

### **2.1. Présentation de la zone d'étude**

L'étude s'est déroulée dans la commune de Kandi au nord-est du Bénin. Kandi est situé entre [11° 07' 43" Latitude Nord et 2° 56' 13" Longitude Est](#), à 290 mètres d'altitude. Sur une surface de 3.421 km<sup>2</sup>, le relief de la commune de Kandi est composé en majorité de plateaux de grès auxquels s'ajoutent quelques collines granitiques et de quartzites. Deux cours d'eaux permanents arrosent la commune : la Sota (250 km de long) et l'Alibori (338 km de long) (Figure 6).

La végétation est constituée de savanes arborées ou arbustives, de forêts galeries par endroits, de forêts classées dont la forêt cynégétique de la Sota avec des espèces comme le Karité, le lingué, le néré, le baobab et le fromager. Kandi présente un climat de type soudanien avec une saison sèche de novembre à avril et une saison de pluie de mai à octobre. A Kandi, la pluviométrie mensuelle moyenne avoisine 84 mm pour des valeurs comprises entre 0 et 271 mm de pluies (Figure 7a). En saison sèche, les températures sont très élevées et peuvent atteindre jusqu'à 45°C (Figure 7b). La sécheresse y est caractéristique avec une absence de pluie pendant près de six mois (Figure 8a) et un ensoleillement important (Figure 8a). Malgré les conditions environnementales inadéquates de cette longue saison sèche, le paludisme y sévit toute l'année avec des flambées de type épidémique en saison des pluies (Ministère la Santé, 2010).

L'étude a été réalisée dans 4 villages de Kandi. Les villages ont été choisis en tenant compte de leur accessibilité, de leur habitabilité mais surtout de la présence ou non de cours d'eau permanent ou semi-permanent. Les villages d'étude ont été classés dans deux secteurs en fonction de leur degré d'aridité:

#### **2.1.1. Les villages du secteur S+**

Ils ont été retenus sur la base des données hydrographiques et de questionnaires déroulés à l'endroit des autorités locales (le chef-village et ses conseillers) et autres sages. Kandi étant une zone sèche, le principal critère ayant motivé le choix des villages du secteur S+ a été la présence et la persistance de cours d'eau permanent ou semi-permanent pouvant atténuer le degré d'aridité pendant les périodes de forte sécheresse (novembre à avril). En effet, les eaux

de surface pourraient, pendant la saison sèche, servir de gîte larvaire de relais à la reproduction des moustiques car la plupart des gîtes classiques disparaissent au cours de cette période de l'année. Les 2 villages témoins retenus dans le secteur S+ sont Sonsor (11° 5' 7.73" Latitude Nord ; 2° 45' 42.49" Longitude Est) et Pèdè (11° 11' 17.76" Latitude Nord ; 2° 57' 22.72 Longitude Est).

Il existe à Sonsor un cours d'eau dit Sonsor, qui est en réalité un bras de la Sota, l'un des deux cours d'eau permanent de la commune de Kandi. Quant à Pèdè, il est traversé par Yagasso, un cours d'eau semi-permanent. Une trentaine de kilomètres séparent les 2 villages du secteur S+. Pendant la saison sèche, les populations riveraines ont recours aux cours d'eau Sonsor et Yagasso mais aussi aux bornes fontaines disséminées sur le territoire de ces deux villages pour leur besoin en eau. A Sonsor, l'essentiel des infrastructures sanitaires se résume à un dispensaire et une maternité publiques. A Pèdè par contre, il n'existe pas d'établissement de santé publique. Les populations locales, à défaut de rallier Kandi situé à 8 Km, préfèrent se faire consulter dans les deux cabinets médicaux privés installés dans le village.

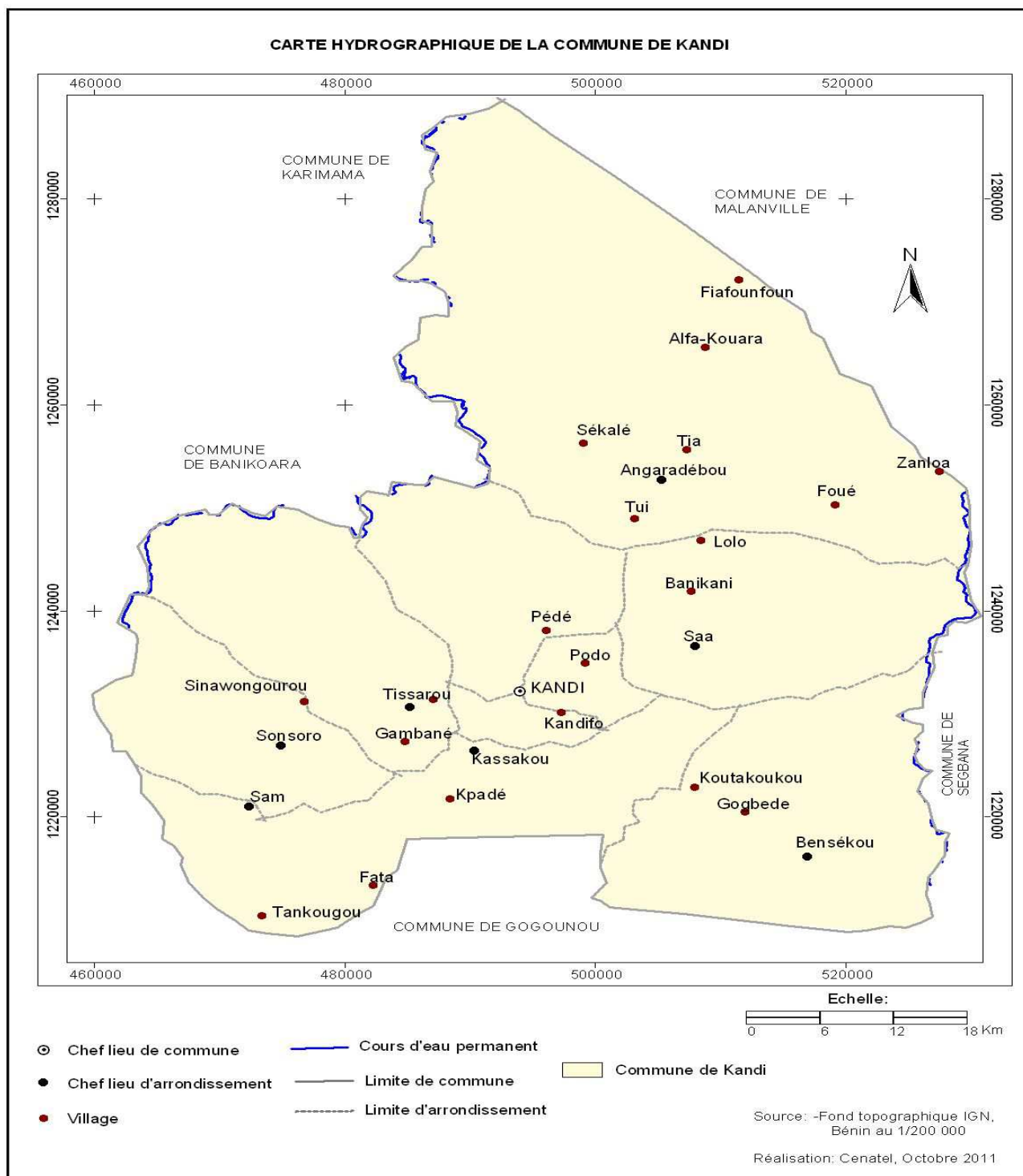
S'agissant de la valeur agricole, les principales denrées cultivées à Sonsor sont le coton, le maïs et le riz. Le sorgho, le mil, l'arachide, le niébé, le voandzou, le sésame et le piment y sont aussi cultivés. Pèdè est quant à lui un véritable bassin céréalier et la production du maïs est parmi l'une des plus importantes de la commune de Kandi.

### **2.1.2. Les villages du secteur S++**

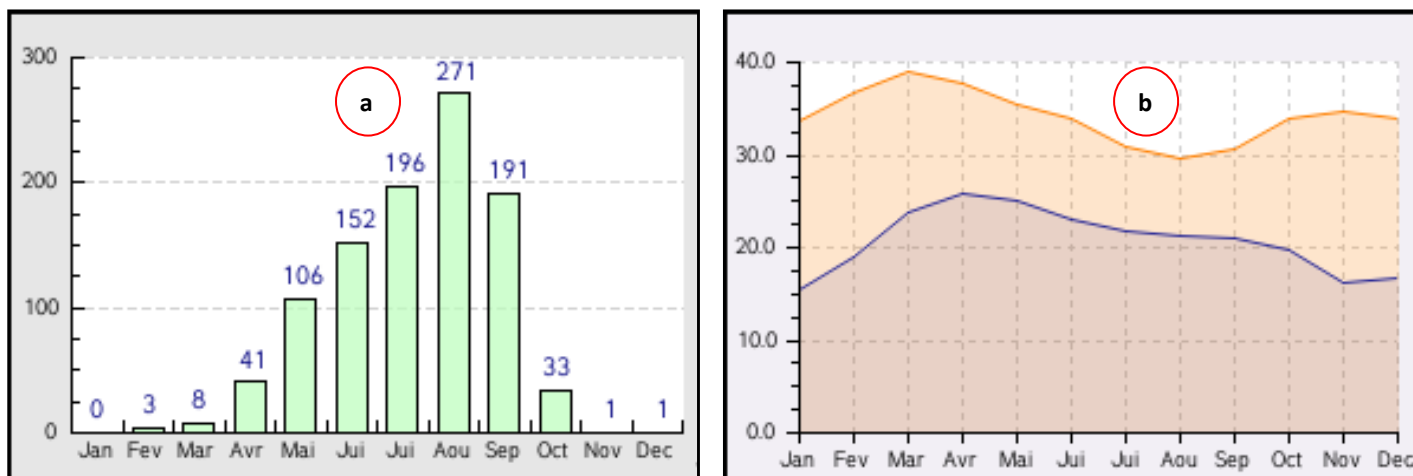
Ils sont de nature plus aride que les villages du secteur S+ (d'où le symbole ++ qui signifie plus aride que +). Dans les 2 villages du secteur S++, il n'existe aucun cours d'eau permanent (ou semi-permanent) dans un rayon de 10 km. Il s'agit de Thui (11° 5' 7.73" Latitude Nord ; 2° 45' 42.49" Longitude Est) et de Kossarou (11° 7' 32.34" Latitude Nord ; 2° 56' 11.652" Longitude Est). Les 2 villages du secteur S++ sont distants de 22 kilomètres. Kossarou est situé respectivement à 11 km et 20 km des cours d'eau Yagasso et Sonsor. Quant à Thui, le cours d'eau le plus proche (Yagasso) se trouve à 15 km. A Kossarou et à Thui, l'approvisionnement en eau pendant la saison sèche se fait exclusivement grâce aux bornes fontaines. Par ailleurs, à Kossarou, quartier situé en plein cœur du centre-ville de Kandi, quelques habitations sont abonnées au réseau de distribution de la Société Nationale des Eaux du Bénin (SONEB). Sur le plan de l'accessibilité aux soins de santé, Kossarou en raison de sa

nature urbaine est le mieux loti. Les formations sanitaires fréquentées par les populations de Kossarou et de Kandi sont l'hôpital de zone de Kandi et surtout le Centre de Santé de Gansosso. A l'opposé, Thui manque d'infrastructure publique de santé. Pour les soucis de santé, les populations sont obligées de faire recours au seul cabinet médical privé du village ou de se rendre à Kandi situé à une vingtaine de kilomètre.

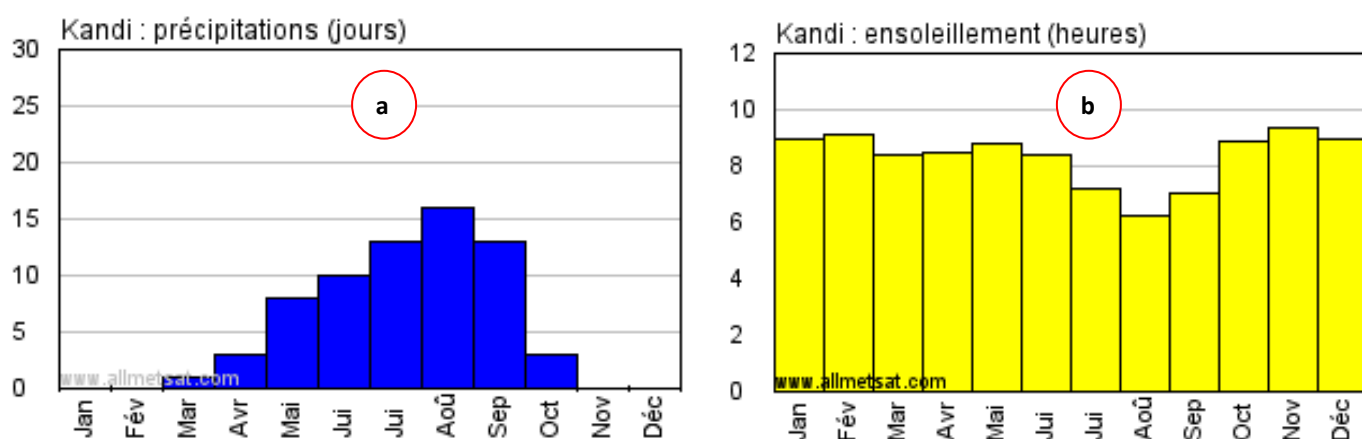
A Thui, l'agriculture reste la principale activité génératrice de revenus. La production du coton et du maïs dépasse respectivement celle du sorgho et de l'arachide. Sur le territoire de Kossarou par contre, il n'y a pratiquement pas d'activité agricole en raison de la nature urbaine du site.



**Figure 6:** Commune de Kandi avec les cours d'eau permanents et les villages d'étude (Govoetchan *et al.*, 2014)



**Figure 7:** Evolution des moyennes mensuelles de la pluviométrie (a) en mm de pluies et des températures minimum et maximum (b) en °C à Kandi (données 2010).



**Figure 8:** Nombre de jours de précipitations  $\geq 1$  mm (a) et moyenne mensuelle du nombre d'heures de soleil par jour (b) à Kandi (données 2010).

## **2.2. Géo-référencement des gîtes de reproduction de moustique**

### **2.2.1. Identification, géo-positionnement des gîtes et densité larvaire**

La présente activité vise à établir un répertoire des gîtes de reproduction de moustique dans les 4 sites sélectionnés. L'identification, le géo-positionnement et le recensement des gîtes larvaires ont été faits de façon exhaustive tous les deux mois pendant la saison pluvieuse (mai 2012 à octobre 2012), et à chaque mois pendant la saison sèche (octobre 2012 à avril 2013). L'échantillonnage a été mensuel pendant la saison sèche pour explorer tous les habitats larvaires de relais pour la reproduction des moustiques. Au cours des différentes missions effectuées, les 4 sites choisis ont été soigneusement prospectés, de même que leur alentour, à la recherche de points d'eau pouvant abriter les stades préimaginaux de moustiques. Les données recueillies sont:

- Le nombre de gîte larvaire par site d'étude ;
- les différents habitats larvaires par saison et par site d'étude ;
- le genre des larves retrouvées dans les gîtes larvaires par site d'étude.

Lorsque les gîtes d'anophèles ou les gîtes mixtes d'anophèles sont rencontrés, la densité larvaire est estimée au moyen de 3 louchées et le nombre de larves d'anophèles par louchée est enregistré.

### **2.2.2. Dynamique, suivi périodique et cartographie des gîtes larvaires référencés**

Chaque gîte géo-référencé au cours de la première mission est rigoureusement suivi jusqu'à la fin de l'étude. Les autres gîtes retrouvés par la suite (les nouveaux gîtes) sont relevés et également visités à chaque mission. Les données recueillies ont servi à élaborer une carte de distribution des gîtes de reproduction des moustiques par site d'étude et par saison. De même, la variabilité des habitats larvaires en fonction des saisons (période de l'année) a été recherchée.

## **2.3. Collecte de données**

Les outils utilisés pour la collecte des données sont des tablettes Samsung Galaxy Tab 10.1<sup>®</sup>. Un formulaire d'enquête a été créé à cet effet avec le logiciel ODK collect et a permis l'enregistrement automatique des données sur le terrain. A la fin de chaque mission d'étude, les tablettes sont directement connectées à internet via une carte SIM et les données

recueillies sont directement transférées à un serveur cloud. Cette technique de collecte garantit la traçabilité des données, limite les éventuelles erreurs et permet une sauvegarde à vie des données.

### **3. Etude de la dynamique de population, des caractéristiques moléculaires et de l'infectivité au *Plasmodium falciparum* des anophèles vecteurs du paludisme**

Cette partie de notre étude a permis d'échantillonner les moustiques et de les identifier suivant les clés de déterminations morphologiques. L'infectivité au *P. falciparum* a été recherchée chez les spécimens d'anophèles vecteurs capturés puis leur forme moléculaire et leur espèce ont été déterminées.

#### **3.1. Site d'étude**

L'étude de la dynamique de population, des caractéristiques moléculaires et de l'infectivité au *Plasmodium falciparum* des anophèles vecteurs du paludisme a été menée dans les villages précédemment décrites. Il s'agit des deux villages du secteur S+ (Sonsoro et Pèdè) et les deux villages du secteur S++ (Thui et Kossarou).

#### **3.2. Echantillonnage des populations d'anophèles adultes**

Pour la mesure de la transmission du paludisme, des séances de captures d'anophèles ont été effectuées dans les 4 villages (secteur S+ et secteur S++) retenus pour notre étude. Les techniques de capture n'ont pas été les mêmes partout. A Sonsoro (un village du Secteur S+) et Kossarou (un village du Secteur S++) nous avons effectué à la fois des captures de nuits sur appâts humains et par pièges fenêtrés cumulée à une aspersions intradomiciliaires de bombes aérosols. Par contre dans les deux villages restants à savoir Pèdè (S+) et Thui (S++), l'échantillonnage des populations d'anophèles adultes a été exclusivement effectué par des captures par piège fenêtré suivie d'aspersion intradomiciliaire.

### 3.2.1 Capture de nuit sur appât humain

Elle nous a permis d'évaluer le taux de piqûre et la fréquence des piqûres infectées pour chaque village. A Sonsoro (secteur S+) et à Kossarou (secteur S++), les captures sont organisées sur appât humain dans 2 maisons. Dans chaque maison, un volontaire à l'intérieur, et un second à l'extérieur, récoltent de 21 h à 05 h du matin les moustiques venus les piquer au moyen d'aspirateurs à bouche individuels (Photo 3). Deux séances de captures de nuit sont effectuées dans chaque village par bimestre pendant la saison pluvieuse (mai à octobre) et par mois pendant la saison sèche (novembre à avril). Une rotation des captureurs sur les points de captures est réalisée au cours des nuits successives de capture afin de minimiser les biais d'échantillonnage.

Les moustiques capturés sont identifiés le lendemain matin selon le genre et l'espèce à partir de la clé de Gillies et de Meillon (1968). Les anophèles vecteurs sont disséqués afin de déterminer le taux d'anophèles pares. L'ensemble tête-thorax de ces anophèles est conservé sur du silicagel pour la recherche de l'infection par la méthode de titrage immunoenzymatique (Elisa CSP). A partir des résultats des captures et des tests ELISA, nous avons déterminé le nombre de piqûres que reçoit un homme par nuit pour chaque village, l'indice sporozoïtique et le taux d'inoculation entomologique d'*An. gambiae*. Les abdomens ont été utilisés pour la caractérisation moléculaire (PCR forme et espèce au sein du complexe *An. gambiae*).

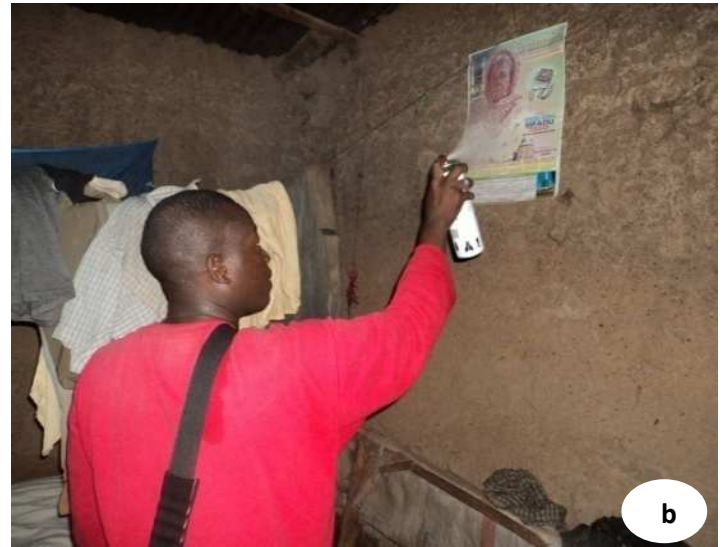


**Photo 3:** Capture des moustiques sur homme

### **3.2.2 Capture par piège fenêtre (window trap) suivie d'aspersion intradomiciliaire**

Dans les deux secteurs étudiés, les moustiques sont capturés par les fenêtres pièges. Dans chacun des 4 villages d'étude, 4 habitations humaines ont été sélectionnées pour poser les pièges. Le critère de choix des habitations a été la présence d'au moins une fenêtre et d'avoir le moins d'espace possible entre le mur et le toit. En effet, une ouverture importante entre le mur et le toit facilite la sortie des moustiques des habitations dès le lever du soleil. Les fenêtres pièges sont constituées d'un tulle de térylène montée à un cadre en fer de forme cubique, de 30 cm d'arrête. L'entrée est dessinée dans un cône tronqué de 2,5 cm de diamètre de trou et dont le sommet est à 2,5 cm de la face opposée du piège (Bar-Zeev & Self, 1966). Sur chaque fenêtre est placé un contre plaqué de 1m de côté qui porte en son centre une ouverture de 30 cm de côté. Dans chaque case sélectionnée, les pièges sont placés sur les fenêtres des cases vers l'extérieur et maintenus ainsi de 18h à 6h le lendemain pendant deux jours consécutifs suivant la périodicité des captures sur appâts humains (Photo 4a). Cette technique de capture permet de récolter la fraction de moustiques qui sortent des habitations après le lever du soleil. Au terme de cette capture, les moustiques sont transférés à l'aide d'un aspirateur dans des gobelets puis les mêmes chambres sont pulvérisées avec des bombes aérosols après avoir étalé des draps blancs au plancher. Cela a permis de recueillir les moustiques restés au repos dans les habitations humaines (Photo 4b). Tous les moustiques capturés par piège fenêtre et par pulvérisation intradomiciliaire sont identifiés en même temps selon le genre et l'espèce à partir de la clé de Gillies et de Meillon (1968) puis les spécimens vecteurs du paludisme sont traités comme ceux capturés sur appât humain.

Ces 2 opérations ont permis d'estimer la densité totale de moustiques dans la case et la proportion de moustiques femelles qui ressortent de la case.



**Photo 4:** Capture des moustiques par piège fenêtre (a) et par aspersion de bombes aérosols (b)

### **3.3 Caractérisation des populations d'anophèles**

#### **3.3.1 Identification de l'état physiologique des anophèles capturés**

Pour les moustiques capturés par pièges fenêtre et par aspersion de bombe aérosol, l'état physiologique de l'abdomen des femelles (à jeun, gorgés, semi gravides et gravides) a été enregistré sur la fiche de collecte de données en même temps que les données de l'identification morphologique. La détermination de l'état réplétif a été faite suivant le niveau de digestion du sang.

#### **3.3.2 Caractérisation moléculaire des populations d'*Anophèles gambiae* récoltées dans les sites (PCR espèce, forme, kdr et ace-1)**

La caractérisation moléculaire des spécimens d'anophèles vecteurs collectés a été effectuée par PCR. L'ADN total des moustiques a été extrait selon une technique d'extraction dérivée de celle de Collins *et al.* (1987). L'amplification des fragments d'ADN a été réalisée à partir d'amorces spécifiques. L'identification des espèces du complexe *An. gambiae s.l.* a été faite grâce à la technique de Scott *et al.* (1993) et celle des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s.* grâce à la méthode de Favia *et al.* (1997).

Les fragments amplifiés ont été soumis à une migration électrophorétique et les résultats ont été révélés par visualisation des bandes d'ADN aux rayons ultraviolets (Voir annexe 2).

Les mutations *kdr* et *Ace-1* ont été mises en évidence chez les spécimens d'anophèles récoltés respectivement selon les protocoles décrits par Martinez-Torres *et al.* (1998) et Weill *et al.* (2004) (Voir annexe 2).

### **3.3.3 Recherche de l'antigène circumsporoïtique (CSP) du plasmodium chez les moustiques (ELISA)**

La recherche de l'infection des vecteurs au CSP de *P. falciparum* a été faite sur l'ensemble tête-thorax de tous les spécimens d'*An. gambiae* et d'*An. funestus* collectés selon la méthode décrite par Burkot *et al.*, (1984) et Lombardi *et al.*, (1987). Tous les moustiques vecteurs récoltés dans les habitations humaines ont été analysés pour apprécier le niveau de transmission du paludisme dans les quatre villages d'étude. Pour chaque site, le nombre de positifs obtenu a été divisé par le total de moustiques traités pour la détermination de l'indice sporozoïtique (Is).

Le taux d'inoculation entomologique (TIE) représentant le nombre de piqûres infectantes reçues par homme et par unité de temps (jour, mois ou année) a été calculé pour chaque village afin de mesurer la transmission palustre. Il a été calculé en faisant le produit du taux de piqûre (Ma) par l'indice sporozoïtique (Is) ( $TIE = Ma \times Is$ ) (formule de Mac-Donald).

### **3.4 Analyse des données**

Les densités agressives moyennes des anophèles et les TIEs ont été analysées en utilisant une régression de Poisson. Les comparaisons des variables saisonnières ont été effectuées au sein d'une même localité, puis entre les deux localités d'un même secteur d'une part, et entre les deux secteurs d'autre part.

#### **4. Enquête parasito-clinique du paludisme en saison sèche**

##### **4.1 Données rétrospectives sur l'incidence du paludisme de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++**

Dans le but de se faire une idée sur le poids du paludisme dans la commune de Kandi pendant la saison sèche, nous avons réalisé une enquête rétrospective basée sur le recueil des données cliniques dans des formations sanitaires du secteur S+ et du secteur S++. A cet effet, dans le secteur S+, nous avons retenu le Centre de Santé d'Arrondissement (CSA) de Sonsoro (situé en milieu rural) alors que dans le secteur S++, nous avons choisi le Centre de Santé de Commune (CSC) de Gansosso situé au centre-ville de Kandi. Cette enquête a consisté à consulter les registres de soins curatifs et à relever tous les cas notifiés de paludisme (simple et grave) au sein des populations autochtones par les responsables des formations sanitaires de 2008 à 2012. Ceci nous a permis de comparer l'incidence du paludisme durant la saison pluvieuse et la saison sèche, dans les deux secteurs. Le CSC de Gansosso (secteur S++) étant situé en milieu urbain et plus équipés, les données concernant les cas référés ont été écartées pour ne considérer que les cas de paludisme observés chez les personnes vivant dans le secteur S++. Il est important de souligner que notre démarche n'est pas basée sur la mise en œuvre d'une étude sur les cas cliniques du paludisme. Nous avons purement et simplement consulté les registres des deux formations sanitaires et enregistré les cas diagnostiqués comme paludisme par les responsables de ces formations sanitaires.

Par ailleurs, le CSA de Sonsoro et le CSC de Gansosso sont respectivement tenus par une sage-femme et un infirmier diplômés d'état qui s'assurent que les cas d'accès palustres sont consignés dans leurs registres suivant des critères définis par le Système National d'Information et de Gestion Sanitaires (SNIGS). Ce sont ces données qui, une fois cumulées, servent à la rédaction de l'Annuaire des Statistiques de la Santé édité chaque année par le Ministère de la Santé du Bénin.

La situation des enfants de moins de 10 ans a particulièrement retenu notre attention. Les paramètres ci-après ont été recueillis à partir des registres de ces formations sanitaires:

- fréquence des cas de paludisme dans les secteurs S+ et S++ entre 2008 et 2012;
- poids du paludisme durant les saisons sèches de longue durée.

## **4.2 Etude de la prévalence du *Plasmodium falciparum* dans les secteurs S+ et S++ pendant les saisons sèches de longue durée**

### **4.2.1 Justification**

La présence des anophèles, malgré les conditions arides dues à une longue saison sèche et des températures élevées, devrait rendre possible la transmission du paludisme à cette période. C'est pourquoi, en plus des données recueillies dans les registres de soins curatifs, nous avons jugé opportun de réaliser une enquête parasitologique basée sur la réalisation des tests de diagnostic rapides chez un groupe de 400 enfants dans les secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi afin de croiser les données avec celles des enquêtes cliniques et entomologiques.

### **4.2.2 Population cible : critères d'inclusion et d'exclusion**

Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont les deux cibles les plus vulnérables à la transmission du paludisme. Pour le compte de notre étude, les tests de diagnostic rapide du paludisme ont été réalisés chez 400 enfants âgés de 3 – 9 ans. Ces enfants ont été sélectionnés à l'Ecole Primaire Publique (EPP) de Sonsoro dans le secteur S+ et à l'EPP de Kandi-centre dans le secteur S++. L'idéal pour nous aurait été de sélectionner seulement les enfants ayant moins de 5 ans, mais dans le souci de faciliter le travail et d'avoir un effectif d'au moins 200 enfants dans chaque école, nous avons élargi la tranche d'âge. Aucun critère d'exclusion n'a été retenu pour l'enquête. Tous les enfants ayant entre 3 et 9 ans ont été systématiquement pris en compte.

### **4.2.3 Démarche administrative et déroulement de l'enquête**

Les écoles primaires de Sonsoro (secteur S+) et de Kandi-centre (secteur S++) ayant été identifiées, nous avons adressé une demande d'autorisation à l'endroit des autorités politico-administrative (maire de Kandi) et sanitaire (Médecin Chef de la zone sanitaire Kandi-Gogounou-Ségbana), aux responsables de la Direction Départementale de l'Enseignement Primaire et Secondaire, et aux directeurs des écoles concernées. La même note précisait le but visé par l'étude et le calendrier de l'enquête en cas de consentement desdites autorités.

Quant à la réalisation pratique de l'activité, seules les classes de maternelle, des Cours d'Initiation (CI), des Cours Préparatoires (CP) et des Cours Élémentaires I (CE1) abritaient les enfants de notre groupe cible. Avec l'aide des instituteurs des classes concernées, les

enfants étaient appelés par ordre alphabétique et orientés vers l'un des 4 postes de prélèvement installés pour la circonstance. Pour chaque enfant, les données recueillies sont :

- le nom et le prénom
- la classe
- l'âge
- le poids
- le résultat du TDR

#### **4.2.4 Approbation éthique**

Notre protocole a reçu l'accord éthique du Comité National Provisoire pour la Recherche en Santé du Ministère de la Santé du Bénin. Les leaders d'opinions ont été informés du but de notre étude et ont donné leur consentement verbal avant le déroulement de l'enquête. Les parents des écoliers retenus pour les tests de diagnostic rapide du paludisme ont donné leur consentement écrit.

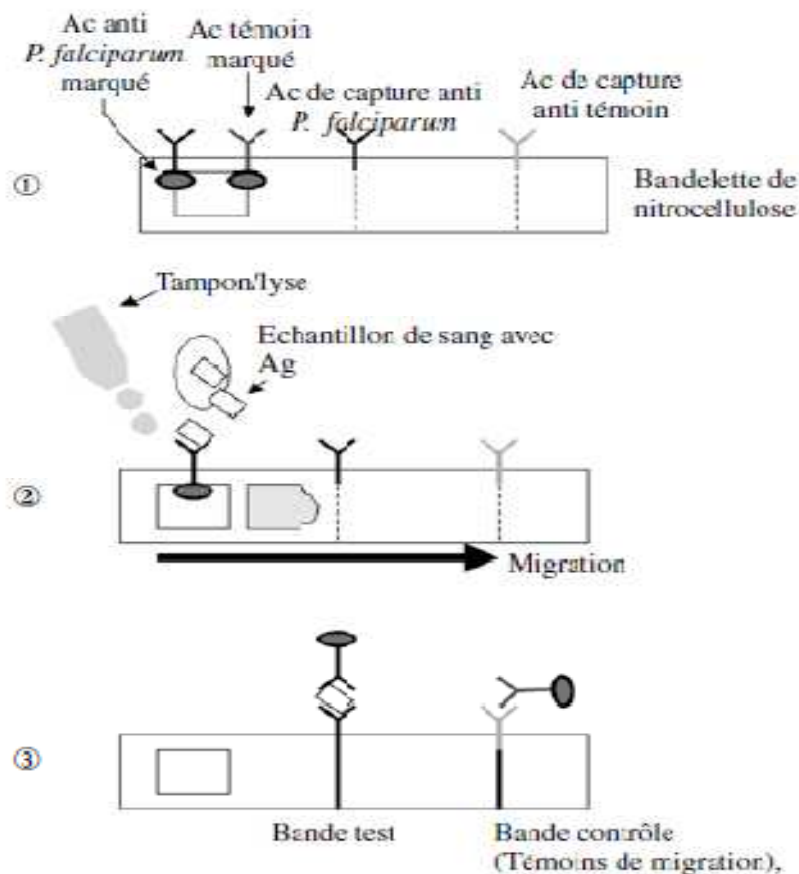
#### **4.2.5 Principe du Test de Diagnostic Rapide (TDR) du paludisme**

Le principe des différents tests de détection antigénique est globalement superposable et repose sur l'immunochromatographie : l'échantillon à tester (quelques microlitres de sang total obtenu à partir de sang capillaire ou de sang veineux) est déposé à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support plastique ou carton. Si l'antigène recherché est présent (Histidin Rich Protein 2 (HPR2), Lactate Deshydrogénase (LDH)), il va se lier avec un anticorps marqué le plus souvent à l'or colloïdal. Afin de faciliter la lyse des globules rouges ainsi que la migration de l'échantillon sur la bandelette, quelques gouttes de solution tampon/lyse sont déposées.

Les complexes antigènes - anticorps vont alors migrer par chromatographie et l'antigène sera capturé en sandwich par un anticorps de capture fixé sur la membrane. Cette capture va alors se traduire par l'apparition d'une ligne mauve. L'excès de conjugué va continuer à migrer et va être immobilisé par un anticorps qui peut être anti-lapin ou anti-souris, l'accumulation de complexes colorés va là aussi entraîner l'apparition d'une ligne mauve : cette seconde ligne ou ligne contrôle valide le bon fonctionnement de la réaction. En cas de réaction négative seule la ligne contrôle doit être positive. En règle générale en cas de positivité des tests,

l'apparition des bandes est rapide : de l'ordre de 1 à 2 minutes. Pour la plupart des tests, la réaction doit être lue dans les 15 minutes. Les tests dont la bande réactive s'est positivée plusieurs heures après la réaction sont à considérer comme négatifs.

Pour le compte de notre étude, nous avons utilisé des tests Carestart®. Le principe de ce test est basé sur la détection de l'HRP 2, une glycoprotéine spécifique de *Plasmodium falciparum* exposée à la surface du globule rouge parasité et en même temps activement sécrétée par les formes asexuées et les jeunes gamétocytes au cours du cycle érythrocytaire, avec un pic au moment de la rupture des schizontes (Figure 9).



**Légende :**

① Présentation de la bandelette réactive.

② Dépôt de l'échantillon sanguin, de la solution de tampon/lyse puis migration.

③ Capture du complexe conjugué-cr colloïdal/antigène par l'anticorps de capture fixé et capture de l'anticorps témoin par un anticorps anti-témoin immobilisé.

**Figure 9:** Principe du test de détection antigénique du paludisme (Hance *et al.*, 2005)

#### **4.2.6 Paramètres mesurés**

Cette enquête s'est proposée de mesurer la prévalence du paludisme dans les deux secteurs S+ et S++ au cours du mois de mars qui est réputé pour son extrême sécheresse. D'un point de vue global, le but ainsi visé est de comparer les données de la prévalence du paludisme en saison sèche dans ces deux secteurs et d'investiguer sur les facteurs pouvant l'influencer. Plus précisément, il s'est agi de comparer le pourcentage d'enfants à TDR+ dans le secteur S++, un milieu dépourvu de tout gîte d'anophèles et celui du secteur S+, un milieu où la présence de gîtes d'anophèles n'est pas exclu compte tenu de la proximité d'un cours d'eau permanent.

#### **4.2.7 Analyse des données**

Les données de la prévalence du paludisme dans les deux secteurs de la communes de Kandi ont subi une régression logistique afin d'évaluer la variation de la fréquence des porteurs de *P. falciparum* entre les modalités d'un même facteur (le degré d'aridité, le sexe, le niveau d'étude, l'âge et le poids des enfants). Par ailleurs, l'influence de chacun de ces facteurs sur le risque du paludisme à Kandi a été évaluée à travers le test de Wald et le test de rapport de vraisemblance (LR test). Ainsi, des valeurs de probabilité ont permis de statuer sur la significativité de l'influence d'un facteur quelconque sur le risque du paludisme dans le secteur S+ ou dans le secteur S++.

## **Chapitre 3 :**

---

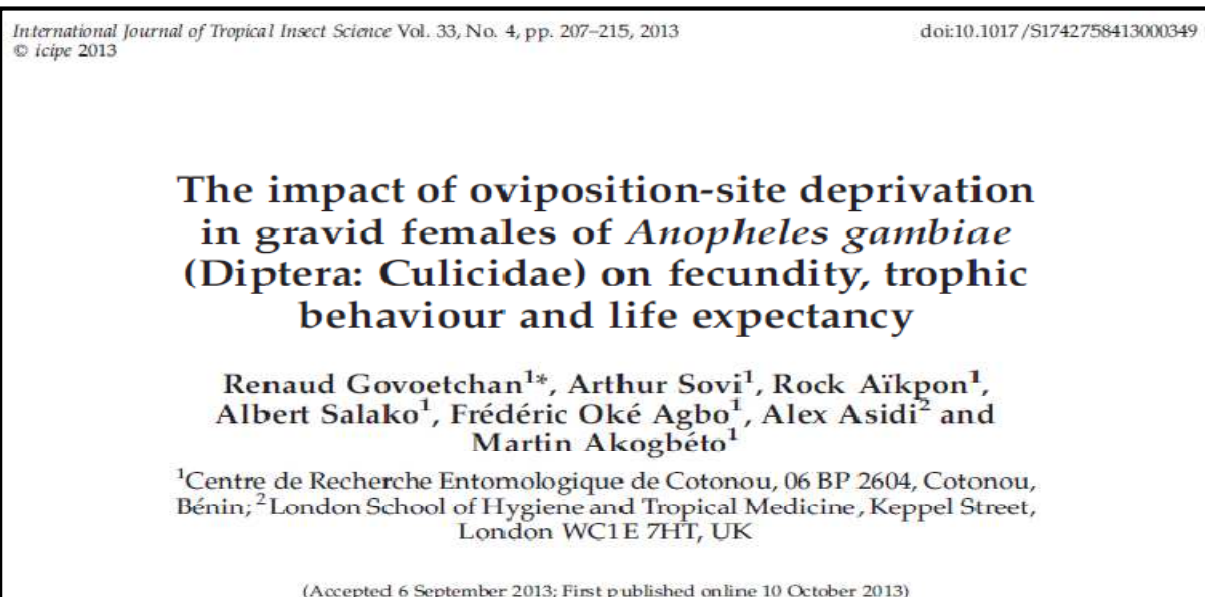
**Impact d'une longue rétention des œufs sur les performances de reproduction, les comportements trophique et d'oviposition des femelles gravides d'*Anopheles gambiae s.l***

## 1. Introduction

Comme la plupart des moustiques, le développement de *Anopheles gambiae*, principal vecteur du paludisme, dépend de la disponibilité de gîte de ponte pour l'oviposition. Cependant, pendant les périodes de sécheresse, les gîtes larvaires disparaissent pour plusieurs semaines, voire plusieurs mois dans certains environnements arides. Dans ces conditions, les anophèles gravides sont contraints de porter les œufs dans les ovaires sur une longue période (au-delà de la durée du cycle gonotrophique) et attendre que les conditions deviennent favorables pour l'oviposition.

Dans le présent chapitre, nous avons effectué une série de simulations pour suivre les capacités d'adaptation des femelles gravides d'*An. gambiae* en absence de gîtes larvaires qui caractérisent les mauvaises saisons et les conséquences éventuelles sur la fécondité des anophèles, la viabilité des œufs pondus après un long portage dans les ovaires. A cet effet, des femelles gravides en attente de ponte ont été gardées en observation dans des cages, pendant plusieurs semaines. Puis, au terme de durées prédéfinies d'observation, ces femelles gravides ont été mises en ponte individuelle et le cycle de développement des œufs ainsi pondus a été étudié en comparaison à une cohorte d'œufs pondus dans les conditions normales (témoins), c'est-à-dire juste au terme de la durée du cycle gonotrophique. Par ailleurs, l'espérance de vie des femelles gravides en attente de ponte et leur activité trophique ont été étudiées chez des femelles d'anophèles provenant des larves récoltées dans la nature, nourries au sang de lapin et maintenues en cage, sans pondoir, pendant plusieurs semaines.

Les données issues de nos simulations ont été publiées dans les **articles 1 et 2**. Nous vous ferons part de leur contenu à travers dans la suite de ce chapitre.



Full Length Research Paper

**The effects of oviposition site deprivation up to 40 days on reproductive performance, eggs development, and ovipositional behaviour in *Anopheles gambiae* (Diptera, Nematocera, Culicidae)**

Renaud Govoetchan<sup>1\*</sup>, Arthur Sovi<sup>1</sup>, Rock Aïkpon<sup>1</sup>, Roseric Azondékon<sup>1</sup>, Abel Kokou Agbévo<sup>1</sup>, Frédéric Oké-Agbo<sup>1</sup>, Alex Asidi<sup>2</sup> and Martin Akogbéto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recherche Entomologique de Cotonou, 06BP. 2604, Cotonou, Benin.

<sup>2</sup>London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street WC1E 7HT, United Kingdom.

Accepted 3 December, 2013.

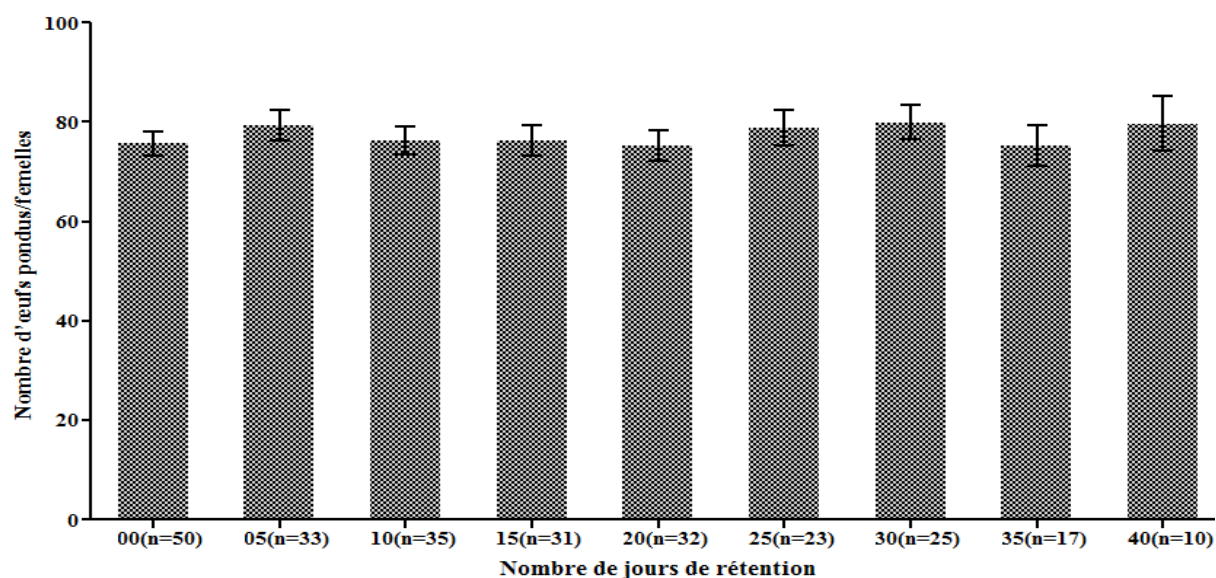
## 2. Résultats

### 2. 1. Capacité de ponte des femelles nullipares de *An. gambiae* privées de pondoir et de repas sanguin.

Au total, 256 femelles nullipares de *An. gambiae* Kisumu ont été utilisées, réparties en 9 lots en fonction du nombre de jours séparant les repas sanguins et la mise en ponte des moustiques. Il ressort des résultats que les pontes moyennes varient très peu suivant la durée de la rétention. Le nombre d'œufs pondus par les différents lots de femelles Kisumu sont compris entre 75,16 œufs/portée et 79,88 œufs/portée ( $\chi^2 = 1.602$ ,  $df = 8$  et  $p = 0.991$ ) (Voir tableau I). On note une similarité entre la fécondité des femelles témoins (J0) et celle des femelles chez qui une rétention d'œufs a été provoquée (J0 à J40). La rétention d'œufs opérée chez *An. gambiae* jusqu'à 40 jours n'influence donc pas significativement la moyenne d'œufs pondus par les différents lots de femelles. La figure 10 montre la variation de la ponte moyenne des différents lots de femelles utilisées au cours de notre étude.

**Tableau I:** le nombre de ponte des femelles nullipares suivant les différents cas de rétention.

| Rétention | Nbre œufs<br>(NO) | Nbre moust<br>(NM) | NO/NM              | Rate ratio<br>(RR) | IC-95%(RR)    | p      |
|-----------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|--------|
| J0        | 3782              | 50                 | 75.64 <sup>a</sup> | 1.00               | -             | -      |
| J05       | 2615              | 33                 | 79.24 <sup>a</sup> | 1.05               | [01.00-01.10] | 0.0676 |
| J10       | 2669              | 35                 | 76.26 <sup>a</sup> | 1.01               | [00.96-01.06] | 0.7474 |
| J15       | 2362              | 31                 | 76.19 <sup>a</sup> | 1.01               | [00.96-01.06] | 0.7803 |
| J20       | 2405              | 32                 | 75.16 <sup>a</sup> | 0.99               | [00.94-01.05] | 0.8064 |
| J25       | 1813              | 23                 | 78.83 <sup>a</sup> | 1.04               | [00.99-01.10] | 0.1492 |
| J30       | 1997              | 25                 | 79.88 <sup>a</sup> | 1.06               | [01.00-01.11] | 0.0591 |
| J35       | 1278              | 17                 | 75.18 <sup>a</sup> | 0.99               | [00.93-01.06] | 0.8513 |
| J40       | 0795              | 10                 | 79.50 <sup>a</sup> | 1.05               | [00.97-01.13] | 0.2031 |



**Figure 10:** nombre moyen d'œufs pondus par les femelles *An. gambiae* dans chaque cas de rétention.

## 2.2. Viabilité des œufs dans un contexte de rétention d'œufs

Au total, 19716 œufs pondus par les différents lots d'anophèles ont été suivis jusqu'à leur éclosion. L'analyse des résultats montre que le taux d'éclosion diminue au-fur-et-à-mesure que la durée de rétention augmente. Le taux d'éclosion est passé de 85.93 % en absence de toute rétention à 31.07 % pour les œufs pondus après une rétention de 40 jours ( $p < 0,001$ ),

soit une baisse de 63.84% en l'intervalle de 40 jours. Le taux d'éclosion des œufs de *An. gambiae* apparaît donc comme une fonction décroissante du temps de rétention (Figure 11).

**Tableau II:** taux d'éclosion des œufs pondus dans chaque cas de rétention.

| Rétention | N œufs éclos<br>(NO) | N œufs pondus<br>(NP) | Taux<br>d'éclosion<br>( $\frac{NO}{NP} \times 100$ ) | OR    | IC-<br>95%(OR) | p-value  |
|-----------|----------------------|-----------------------|------------------------------------------------------|-------|----------------|----------|
| J00       | 3250                 | 3782                  | 85.93 <sup>a</sup>                                   | 01.00 | -              | -        |
| J05       | 1962                 | 2615                  | 75.03 <sup>b</sup>                                   | 02.03 | [01.79-02.31]  | <0.00001 |
| J10       | 1939                 | 2669                  | 72.65 <sup>b</sup>                                   | 02.30 | [02.03-02.61]  | <0.00001 |
| J15       | 1453                 | 2362                  | 61.52 <sup>c</sup>                                   | 03.82 | [03.38-04.32]  | <0.00001 |
| J20       | 1330                 | 2405                  | 55.30 <sup>d</sup>                                   | 04.94 | [04.37-05.58]  | <0.00001 |
| J25       | 0836                 | 1813                  | 46.11 <sup>e</sup>                                   | 06.73 | [05.90-07.67]  | <0.00001 |
| J30       | 0830                 | 1997                  | 41.56 <sup>f</sup>                                   | 08.59 | [07.56-09.76]  | <0.00001 |
| J35       | 0527                 | 1278                  | 41.24 <sup>f</sup>                                   | 08.71 | [07.54-10.06]  | <0.00001 |
| J40       | 0247                 | 0795                  | 31.07 <sup>g</sup>                                   | 13.55 | [11.37-16.16]  | <0.00001 |

N : Nombre

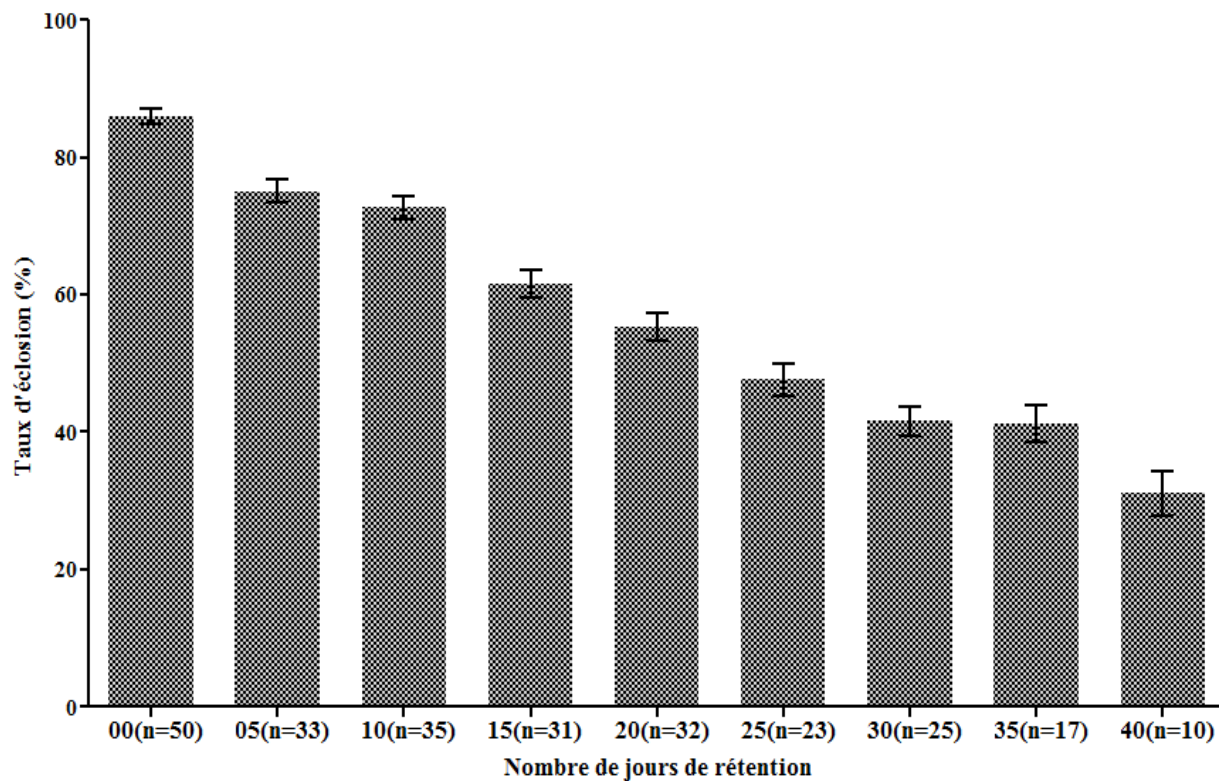
NO : Nombre d'œufs éclos

NP : Nombre d'œufs pondus

OR : Odds Ratio

IC-95%(OR) : Intervalle de confiance à 95% de l'Odds Ratio

p-value : valeur de probabilité



**Figure 11:** variation du taux d'éclosion des œufs de *Anopheles gambiae* dans différents cas de rétention.

### 2.3. Relation entre le nombre d'œufs éclos et le nombre d'œufs embryonnés.

Les taux d'embryonnement sont supérieurs aux taux d'éclosion, peu importe le nombre de jours de rétention mais ces deux paramètres diminuent progressivement au fur et à mesure que la période de rétention des œufs s'allonge. Dans les conditions normales (en l'absence de rétention d'œufs), 97,13% (3250/3346) des œufs embryonnés parvenaient à l'éclosion alors que, après une période de 40 jours de rétention d'œufs, seulement 79,68% (247/310) des œufs embryonnés éclosent (Tableau III). Ces résultats suggèrent que le phénomène de rétention d'œufs est défavorable aux embryons des œufs d'anophèles et que le caractère embryonné d'un œuf à la ponte n'augure pas obligatoirement de son éclosion. La figure 12 présente les taux d'embryonnement et taux d'éclosion des lots d'œufs pondus après une période prédéfinie de rétention.

**Tableau III:** taux d'éclosion et d'embryon des œufs de *Anopheles gambiae* suivant la durée de rétention.

| Rétention | Etats | Nombre<br>(N) | N œufs<br>pondus<br>(NP) | Proportion<br>( $\frac{N}{NP} \times 100$ ) | OR   | IC-95%(OR)    | p.value   |
|-----------|-------|---------------|--------------------------|---------------------------------------------|------|---------------|-----------|
| J0        | OEm   | 3346          | 3782                     | 88.47 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 3250          | 3782                     | 85.93 <sup>b</sup>                          | 1.26 | [01.10-01.44] | 0.001068  |
| J05       | OEm   | 2173          | 2615                     | 83.10 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 1962          | 2615                     | 75.03 <sup>b</sup>                          | 1.64 | [01.43-01.87] | <0.00001  |
| J10       | OEm   | 2171          | 2669                     | 81.34 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 1939          | 2669                     | 72.65 <sup>b</sup>                          | 1.64 | [01.44-01.87] | <0.00001  |
| J15       | OEm   | 1607          | 2362                     | 68.04 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 1453          | 2362                     | 61.52 <sup>b</sup>                          | 1.33 | [01.18-01.50] | 0.0000031 |
| J20       | OEm   | 1374          | 2260                     | 60.80 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 1279          | 2260                     | 56.59 <sup>b</sup>                          | 1.19 | [01.07-01.34] | 0.0045112 |
| J25       | OEm   | 1170          | 1757                     | 66.59 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 836           | 1757                     | 47.58 <sup>b</sup>                          | 2.20 | [01.92-02.52] | <0.00001  |
| J30       | OEm   | 1109          | 1997                     | 55.53 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 830           | 1997                     | 41.56 <sup>b</sup>                          | 1.76 | [01.55-01.99] | <0.00001  |
| J35       | OEm   | 635           | 1278                     | 49.69 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 527           | 1278                     | 41.24 <sup>b</sup>                          | 1.41 | [01.20-01.65] | 0.000021  |
| J40       | OEm   | 310           | 0795                     | 38.99 <sup>a</sup>                          | 1.00 | -             | -         |
|           | OEc   | 247           | 0795                     | 31.07 <sup>b</sup>                          | 1.42 | [01.15-01.74] | 0.0011    |

OEm : Œufs embryonné

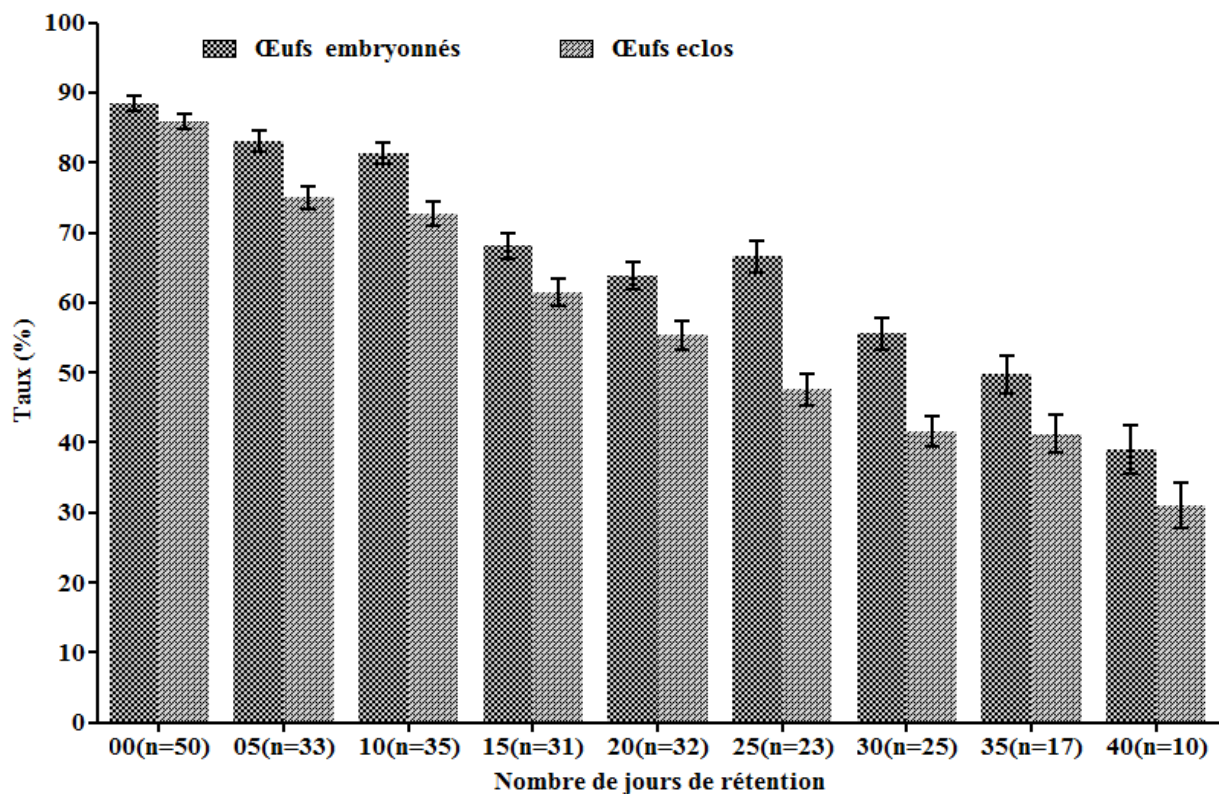
OEc : Œuf éclos

NP : Nombre d'œufs pondus

OR : Odds Ratio

IC-95%(OR) : Intervalle de confiance à 95% de l'Odds Ratio

p-value : valeur de probabilité



**Figure 12:** variation des taux d'éclosion et d'embryonnement des œufs de *Anopheles gambiae* en fonction des jours de rétention.

#### 2.4. Variation du taux d'émergence des imagos issus des œufs retenus dans les ovaires chez les femelles gravides de *An. gambiae*

D'après les résultats consignés dans le tableau IV, le taux d'émergence des nymphes diminue au fur et à mesure que la durée de rétention des œufs dans les ovaires augmente. Ce taux passe de 77,60% en absence de toute rétention à 24,40% (OR : 10.73 ; IC-95%(OR) : 08.98-12.83 et  $p < 0.0001$ ) après une rétention de 40 jours (Figure 13). L'analyse cumulée des taux d'œufs embryonnés, des taux d'éclosion et des taux d'émergence au sein de chaque lot d'anophèles femelles (ponte immédiate versus 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40 jours de rétention des œufs) révèle que tous les œufs embryonnés n'éclosent pas et que tous les œufs éclos ne vont pas au terme de la vie larvaire, donc n'émergent pas. De plus, la durée de rétention influence défavorablement l'embryonnement, l'éclosion des œufs de même que l'émergence des nymphes. (Figure 14).

**Tableau IV:** taux d'émergence des nymphes suivant les différentes modalités de rétention des œufs.

| Rétentions | N Emergence<br>(NE) | N œufs<br>pondus<br>(NP) | Taux<br>d'émergence<br>$(\frac{NE}{NP} \times 100)$ | OR    | IC-95%(OR)    | p-value |
|------------|---------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------|-------|---------------|---------|
| J0         | 2935                | 3782                     | 77,60 <sup>a</sup>                                  | 1.00  | -             | -       |
| J05        | 1681                | 2615                     | 64,28 <sup>b</sup>                                  | 1.92  | [01.72-02.15] | <0.0001 |
| J10        | 1629                | 2669                     | 61,03 <sup>c</sup>                                  | 2.21  | [01.98-02.47] | <0.0001 |
| J15        | 1140                | 2362                     | 48,26 <sup>d</sup>                                  | 3.71  | [03.32-04.15] | <0.0001 |
| J20        | 1076                | 2405                     | 44,74 <sup>d</sup>                                  | 4.28  | [03.83-04.78] | <0.0001 |
| J25        | 0632                | 1813                     | 34,86 <sup>f</sup>                                  | 6.48  | [05.72-07.32] | <0.0001 |
| J30        | 0575                | 1997                     | 28,79 <sup>g</sup>                                  | 8.57  | [07.57-09.69] | <0.0001 |
| J35        | 0414                | 1278                     | 32,39 <sup>f</sup>                                  | 7.23  | [06.29-08.32] | <0.0001 |
| J40        | 0194                | 0795                     | 24,40 <sup>h</sup>                                  | 10.73 | [08.98-12.83] | <0.0001 |

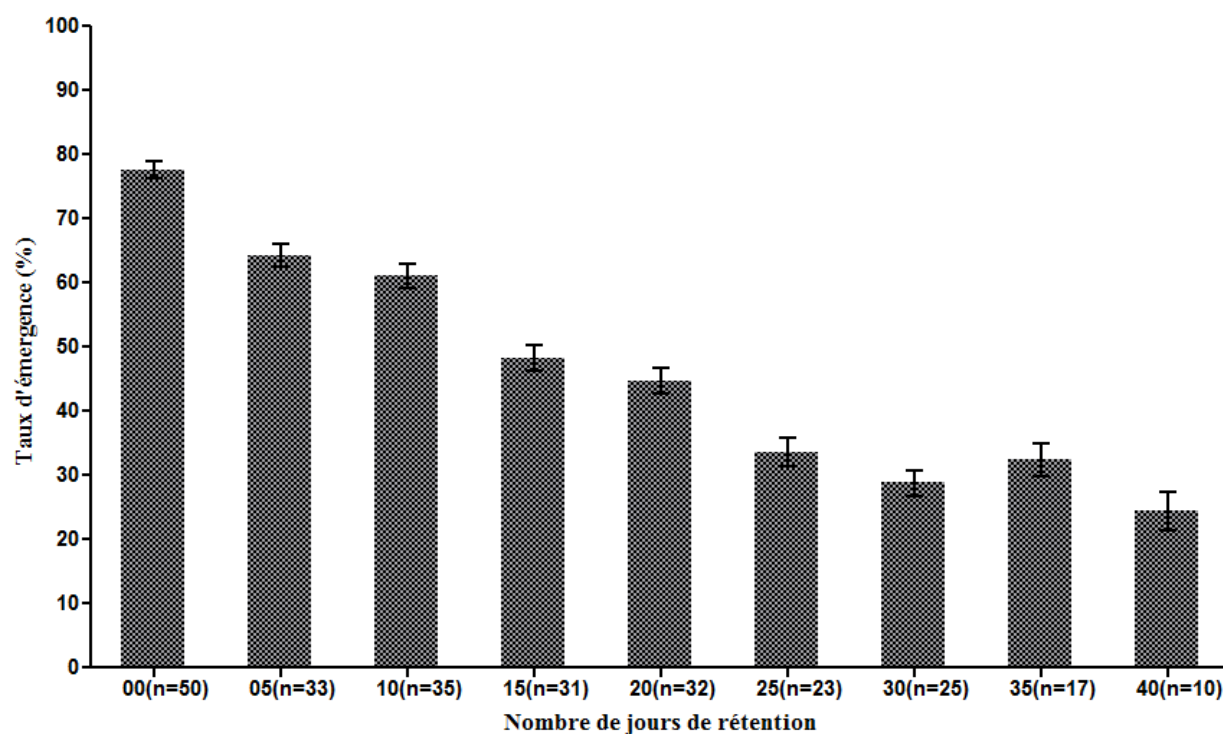
OE: Nombre d'émergence dénombrée

NP : Nombre d'œufs pondus

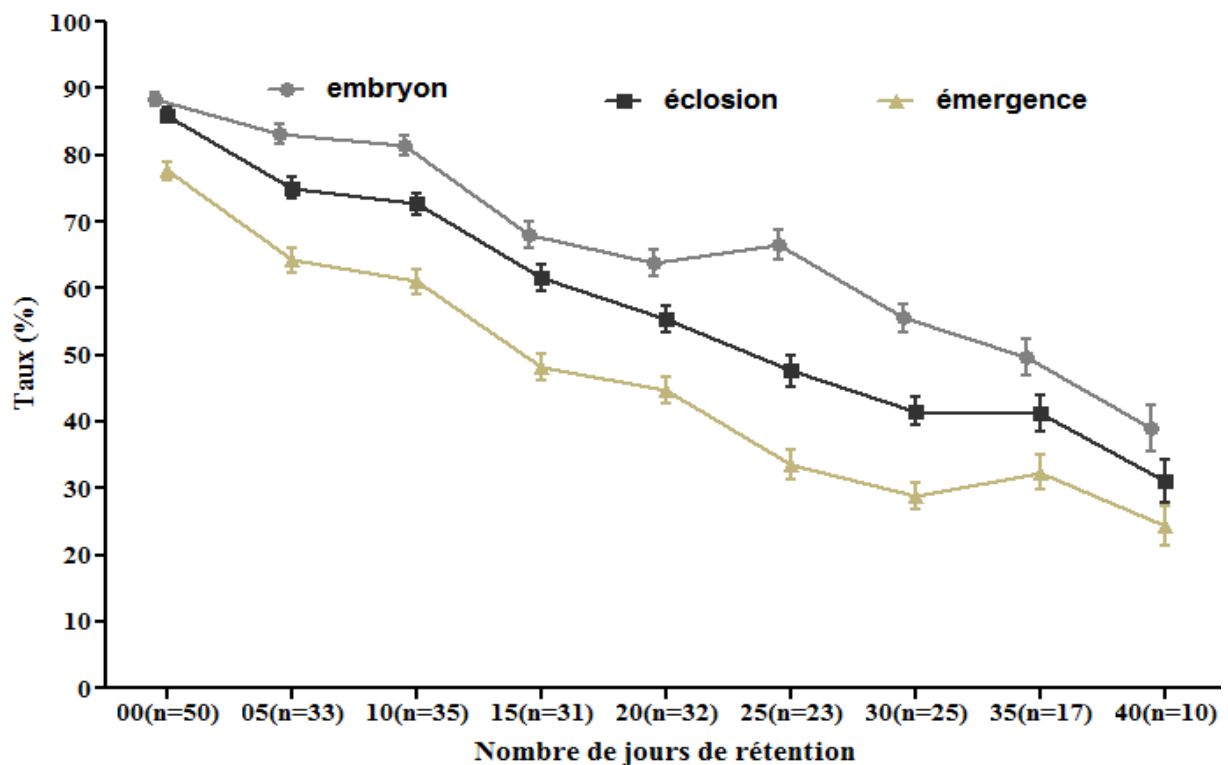
OR : Odds Ratio

IC-95%(OR) : Intervalle de confiance à 95% de l'Odds Ratio

p-value : valeur de probabilité



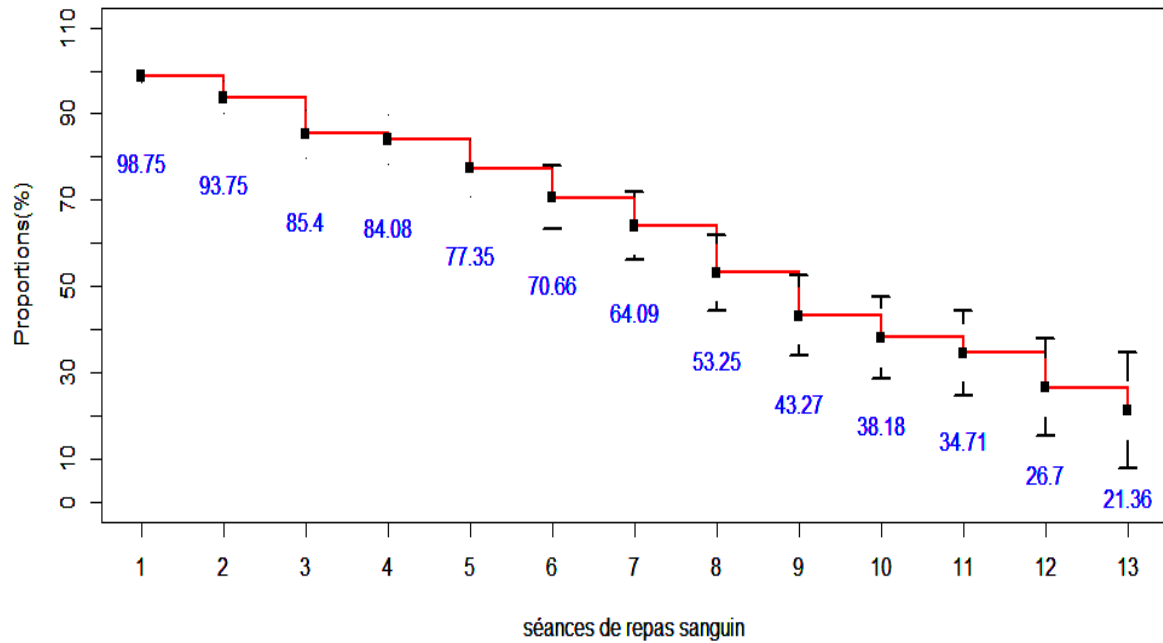
**Figure 13:** variation du taux d'émergence des adultes de *An. gambiae* en fonction de la durée de rétention des œufs.



**Figure 14:** relation entre les taux d’embryon, les taux d’éclosion et les taux d’émergence en fonction de la durée de rétention des œufs.

## 2.5 Activité trophique des femelles gravides

Au total, 160 femelles gravides d’anophèles ont été soumises à une première séance de gorgement. Le dénombrement des femelles gorgées après cette première séance de repas sanguin donne un taux de gorgement de 98,75%, soit 158 femelles gorgées. Avec des repas sanguins espacés de 48 heures, le taux de gorgement est passé à 21,36% au 13<sup>e</sup> repas (Figure 15). Au bout de cette activité, nous remarquons donc que, au fur et à mesure que les repas sanguins se multiplient (à intervalle de temps régulier), il y a une diminution du nombre de femelles gravides qui ne se gorgent pas. Ces données indiquent donc que, dans un contexte de rétention d’œufs, la prise de repas sanguin n’est plus systématique chez l’anophèle gravide en attente d’oviposition.



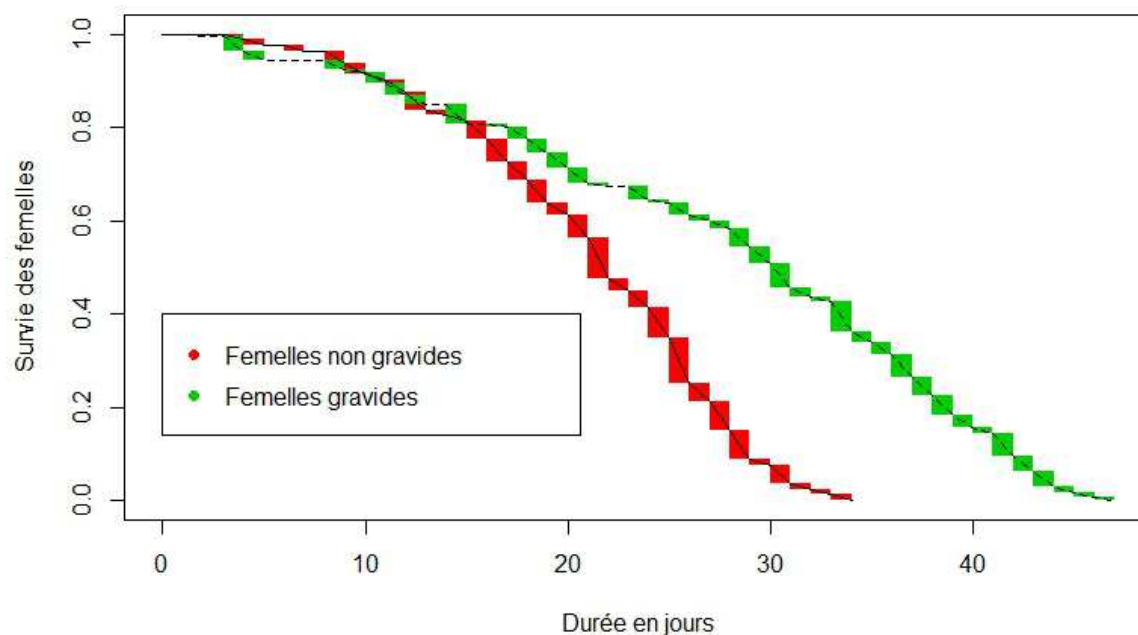
**Figure 15:** Activité trophique des femelles gravides d'*An. gambiae*

## 2.6. Espérance de vie des femelles sauvages gravides d'*An. gambiae*

Un total de 80 moustiques femelles non gravides et 160 femelles gravides ont été mis en observation. Les deux catégories de femelles sont âgées de 7 jours et sont nourries quotidiennement au jus sucré à 10%. Après 34 jours d'observation, toutes les femelles non gravides sont mortes alors que les dernières femelles gravides sont mortes après 47 jours d'observation (Figure 16).

En utilisant la méthode non paramétrique d'estimation de la survie des données censurées par intervalles, il ressort qu'avant 15 jours, les femelles gravides et les témoins (femelles non gravides) ont la même chance de survivre.

Par ailleurs, 50% des femelles témoins et gravides sont mortes respectivement au 22<sup>e</sup> et 32<sup>e</sup> jour de l'expérimentation. L'analyse des deux courbes par le test de rapport de vraisemblance pondéré des données censurées par intervalles révèle que les femelles gravides ont une espérance de vie largement supérieure à celle des témoins (femelles non gravides). En utilisant la régression de Weibull des données censurées, cette espérance de vie est 1,38 fois supérieure à celle des femelles témoins. Ce qui montre qu'il y a une différence nettement significative entre la durée de survie des femelles gravides et celle des femelles non gravides ( $p < 0,05$ ).



**Figure 16:** Espérance de vie des femelles gravides en attente de ponte

### 3. Discussion

Les facteurs écologiques et climatiques sont des déterminants importants de la dynamique de populations des anophèles vecteurs du paludisme et de leur comportement de reproduction. Les périodes de sécheresse, souvent marquées par l'absence plus ou moins prolongée des gîtes de ponte, contraignent les moustiques à retenir leurs œufs dans les ovaires en attendant que les conditions redeviennent meilleures. La série de simulations effectuées dans la présente étude a permis d'explorer la capacité de ponte, le cycle de développement des œufs chez des femelles gravides de *An. gambiae* forcées de garder leurs œufs jusqu'à 40 jours après le repas de sang.

Les femelles gravides de la souche de référence Kisumu ont reçu deux repas sanguins sur lapin dont le second est intervenu 48 heures après le premier pour être certain qu'il a été complètement digéré. Les deux repas sanguins se justifient par le fait que chez la plupart des femelles nullipares d'anophèles, il existe une phase prégravide obligatoire qui fait suite au premier repas de sang ; la maturation ovarienne et la ponte n'interviennent qu'après un second repas d'un volume « normal » (Carnevale *et al.*, 1979). Les données recueillies montrent que le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles non soumises à une rétention d'œufs ne varient pas significativement de celui des femelles forcées de garder leurs œufs respectivement 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40 jours sans pondre après les deux repas de sang.

L'ajournement de ponte pour cause d'absence de gîte de ponte n'a donc pas été identifié, au terme de cette étude, comme un facteur pouvant influencer la fécondité des femelles soumises à une rétention d'œufs, même à 40 jours de rétention. Cependant, de récents travaux ont montré que plusieurs facteurs peuvent intervenir dans le nombre d'œufs pondus par les moustiques. Il s'agit par exemple de la quantité et la qualité des réserves protéiques accumulées par le moustique au cours des stades préimaginaux (Klowden *et al.*, 1988 ; Amalraj *et al.*, 2005), de la température d'élevage des larves (Carvalho *et al.*, 2002 ; Alto & Juliano 2001), de la taille du moustique, de son alimentation et de son âge physiologique (Gary & Foster, 2001). Dans le cadre de notre étude, l'alimentation des larves d'anophèles de la souche de référence Kisumu a été assurée en utilisant 10 grammes de croquette de chat pour 450 ml d'eau et 100 larves. Les adultes quant à eux ont été nourris grâce à un tampon de coton hydrophile imbibé de jus de miel à 10% qui est renouvelé chaque jour.

Le taux d'éclosion des œufs pondus par les différents lots de femelles a significativement diminué au fur et à mesure que la durée de rétention était allongée. Cette diminution du taux d'éclosion des œufs retenus dans les ovaires s'explique par le fait que la rétention des œufs est défavorable aux embryons car le nombre d'œufs non embryonnés augmente au fur et à mesure que s'allonge la durée de rétention. Plusieurs facteurs sont connus pour leur influence sur l'éclosion des œufs : il s'agit notamment de la baisse de température (Holstein, 1954) et la nature de l'eau (Yaro *et al.*, 2006). Dans la nature, l'éclosion des œufs se produit en réponse à une baisse de tension de l'oxygène de l'eau, sous l'action des microorganismes présents dans l'eau stagnante des gîtes (Foster, 1995).

Pour la présente étude, nous aurions aimé poursuivre les simulations avec des femelles d'anophèles ayant des rétentions d'œufs de 3, 4, 5 et même 6 mois. Atteindre un tel objectif, c'est-à-dire garder des femelles gravides d'anophèles pendant plusieurs mois et réussir à les faire pondre, aurait été un véritable exploit étant donné que dans certains écosystèmes tropicaux, les sécheresses sont de longue durée et peuvent même dépasser un semestre. Il ne nous a pas été possible d'allonger la période d'expérimentation en raison de la mortalité de plus en plus élevée enregistrée lorsqu'on prolonge la durée d'observation des moustiques. Ce constat nous amène à conclure que la manipulation du vivant, surtout en captivité, présente des contraintes relatives à sa durée de vie. Maintenir les moustiques en cages contribuerait à réduire leur longévité car selon Gillies (1953), il se crée chez le moustique en captivité, un stress lié principalement au fait que la nécessité du vol pour la recherche des lieux de ponte est supprimée. Au laboratoire, *An. arabiensis* a été gardé en observation, dans des conditions

de saison sèche expérimentale, pendant 206 jours par Omer et Cloudsley-Thomson (1968). Nous pouvons comprendre cette longue durée de vie de *An. arabiensis* dans la mesure où, cette espèce jumelle du complexe *An. gambiae*, est celle qui, selon plusieurs auteurs, résiste le mieux à l'aridité, et qui assure le relais de la transmission du paludisme pendant les périodes de sécheresse (Taylor *et al.*, 1993 ; Simard *et al.*, 2000).

L'activité trophique a été vérifiée sur un total de 160 femelles gravides d'*An. gambiae* sauvage. Les résultats obtenus montrent que, globalement, l'état gravide des moustiques n'empêche pas les prises de repas sanguins successifs. Les calculs statistiques montrent que 53,25 % des femelles gravides privées de pondoir ont pris jusqu'à 8 repas de sang et que 21,36 % d'entre elles ont atteint 13 repas de sang. De façon classique, les moustiques femelles prennent le sang dans le but d'assurer la maturation des ovaires. Les repas sanguins que l'anophèle femelle gravide prélève chez son hôte serviraient probablement à lui fournir de l'énergie. De plus, ces repas serviraient à l'hydratation de son exo-cuticule surtout en période de sécheresse (Hamon, 1963). Nos résultats confirment l'étude menée dans 2 villages de très forte aridité à Khartoum (Soudan) par Omer *et al.* (1970) qui rapportaient une activité trophique continue chez les femelles gravides d'*An. gambiae*. Ce comportement trophique des anophèles est la cause du maintien de la transmission du paludisme pendant les périodes de sécheresse (Hamon, 1968). Pour cela, les autorités sanitaires doivent sensibiliser les populations qui, à cette période de l'année, ne trouvent pas le besoin de dormir sous moustiquaire car même si les piqûres de moustique ne sont pas perceptibles, le risque de transmission existe toujours.

Cette étude a aussi exploré l'espérance de vie des femelles sauvages gravides d'*An. gambiae* par rapport à un lot témoin de femelles non gravides. Les deux cohortes sont nourries au jus de miel (10 %) pendant l'expérience. Il a été noté une différence nettement significative entre la durée de survie des femelles gravides et celle des femelles non gravides. Cette extension de la survie s'expliquerait par les réserves nutritives accumulées par les femelles au cours des deux repas sanguins qu'elles ont eu pour parvenir au stade gravide. Dans les conditions de laboratoire, nous avons trouvé une longévité moyenne de 34 jours pour les femelles non gravides et 47 jours chez les femelles gravides. Toutefois, ces résultats sont obtenus dans les conditions de laboratoire. La durée de vie de chaque catégorie de femelles pourrait être supérieure dans les conditions naturelles. Par ailleurs, l'alimentation des moustiques contribuerait énormément à une extension de leur longévité (Foster 2001).

Les données enregistrées dans cette étude sont obtenues par des simulations au laboratoire. Il serait important de reprendre l'étude dans les conditions naturelles.

#### 4. Conclusion

La présente étude a permis d'enregistrer des données mesurant les conséquences éventuelles d'un allongement de la durée du cycle gonotrophique sur le potentiel de reproduction et le cycle de développement des femelles d'*An. gambiae*. Il en ressort principalement que l'absence prolongée des gîtes de ponte n'a pas d'impact sur la fécondité des anophèles gravides. En d'autres termes, la rétention des œufs chez les anophèles n'affecte pas significativement le nombre d'œufs pondus par les femelles au terme de la période de rétention. Cependant, on note une diminution des taux d'embryonnement et d'éclosion des œufs, et des taux d'émergence des moustiques adultes, et ceci, au fur et à mesure que la durée de rétention s'allonge. Ces données suggèrent donc que, même si le long portage des œufs n'influence pas la fécondité chez *An. gambiae*, le cycle de développement des œufs ainsi pondus en est affecté. Par ailleurs, nos simulations n'ont pas révélé une modification de l'activité trophique chez les femelles gravides en attente de ponte et privées de pondoir pendant plusieurs jours, ce qui pourrait laisser penser que l'ajournement de l'oviposition n'est pas un frein à la prise de repas sanguin chez *An. gambiae* et donc, à la transmission du paludisme pendant les saisons sèches. En termes de survie, les résultats de nos simulations ont montré que, à l'état gravide, les anophèles ont une meilleure espérance de vie comparativement aux spécimens à jeun. On peut alors en déduire qu'en dehors du rôle capital joué par les repas sanguins dans la maturation des œufs, ils procurent des réserves nutritives dont l'accumulation permet aux anophèles de traverser les périodes arides.

## **Chapitre 4 :**

---

### **Répartition spatio-temporelle des stades pré imaginaires et diversité des habitats larvaires des moustiques**

## 1. Introduction

L'élimination des maladies parasitaires à transmission vectorielle repose en grande partie sur la lutte contre le vecteur. Cette lutte ne peut être efficace sans la bonne connaissance de la répartition de ce vecteur dans l'espace et dans le temps. Dans le cadre de notre étude sur l'entomologie du paludisme pendant les saisons sèches de longue durée, la connaissance approfondie de la distribution spatio-temporelle des gîtes larvaires de culicidés est une donnée de base capitale. C'est pour cela que notre première démarche sur le terrain a consisté à élaborer un répertoire de tous les gîtes de reproduction de moustiques et à suivre leur dynamique durant toute une année dans les villages du secteur S+ et du secteur S++, identifiés et classés en fonction de leur degré d'aridité. Nous avons aussi jugé important d'identifier les habitats larvaires potentiels qui assurent la reproduction des moustiques pendant les longues sécheresses.

Les données recueillies dans le présent chapitre ont été publiées dans l'**article 3**



## 2. Résultats

### 2.1. Caractéristiques géophysique et hydrographique des villages d'étude

Le tableau V présente la superficie des 4 sites d'étude retenus et l'existence ou non des eaux de surface (cours d'eau permanent ou semi-permanent) sur leur territoire. Les 2 villages du secteur S+ (Sonsoror et Pèdè) abritent chacun un cours d'eau. Quant aux sites du secteur S++ (Kossarou et Thui), ils sont totalement dépourvus de plan d'eau permanent ou semi-permanent (pas de rivière, fleuve, etc...). En terme de superficie, Kossarou est le plus grand des sites choisis et Pèdè en est le plus petit.

**Tableau V:** Caractéristiques géophysique et hydrographique des sites d'étude

| Secteurs    | Sites    | Superficie (m <sup>2</sup> ) | Nombre de cours d'eau permanent ou semi-permanent |
|-------------|----------|------------------------------|---------------------------------------------------|
| Secteur S+  | Sonsoror | 187278                       | 1                                                 |
|             | Pèdè     | 400928                       | 1                                                 |
| Secteur S++ | Kossarou | 652423                       | 0                                                 |
|             | Thui     | 620164                       | 0                                                 |

### 2.2. Habitats larvaires de moustiques pendant la saison sèche

Un total de 187 gîtes larvaires de moustiques a été identifié dans les villages du secteur S+ (Sonsoror et Pèdè) et les villages du secteur S++ (Thui et Kossarou) au cours de la période de mai 2012 à avril 2013 dont 29,95% pendant la saison sèche (Tableau VI).

Dans tous les sites de l'étude, la situation a été globalement la même. Les habitats larvaires de moustiques ont été très diversifiés en fonction de la saison. Pendant la saison des pluies (mai-octobre 2012), la majorité des gîtes relevés étaient des collections d'eau de pluie et des divers trous dont l'ensemble représentait 51,43% et 88,57% du nombre total de gîtes larvaires retrouvés respectivement à Sonsoror et à Pèdè dans le secteur S+. Dans les villages du secteur S++, la situation a été identique. Les deux catégories de gîtes susmentionnés constituaient 76,92% du total des habitats larvaires échantillonnés pendant la saison pluvieuse à Kossarou contre 100% à Thui. Mais pendant la sécheresse qui a duré six mois (novembre 2012-avril 2013), la nature des gîtes larvaires de moustiques n'était plus la même. Les principaux habitats larvaires identifiés étaient les jarres, les canaries, les bœux, les pots de fleurs et

autres réceptacles retrouvés dans l'environnement immédiat des populations. Nous avons défini ces différents habitats larvaires comme des gîtes domestiques. De plus, la présence des stades préimaginaux de moustique était observée dans quelques puits pendant les périodes de forte sécheresse.

Cependant, les types d'habitats larvaires identifiés pendant la sécheresse ne dépendaient pas du degré d'aridité du secteur dans lequel les sites se trouvent (S+ *versus* S++). Ces habitats larvaires étaient plutôt principalement liés à la situation géographique des sites d'étude. En effet, selon la situation des sites d'étude en milieu rural, péri-urbain ou urbain, différents cas de figure sont observés. Pendant la saison sèche, la majorité des gîtes larvaires échantillonnés à Sonsoró (secteur S+) et à Thui (secteur S++), tous situés en milieu rural, étaient de nature domestique, alors que à Pèdè dans le secteur S+ (site péri-urbain) et à Kossarou dans le secteur S++(site urbain) les rares habitats larvaires identifiés étaient des puits.

Les gîtes larvaires domestiques de moustiques représentaient respectivement 72,41% et 42,86% du nombre total de gîtes dénombrés à Sonsoró (secteur S+) et à Thui (secteur S++). Inversement, les puits constituaient respectivement 50% et 70% des habitats larvaires identifiés pendant la saison sèche à Kossarou (secteur S+) et à Pèdè (secteur S++). Par ailleurs, des gîtes positifs ont également été retrouvés pendant la sécheresse autour des bornes-fontaines publiques à Pèdè (30%) et à Kossarou (6,90%). Certaines collections d'eau polluée ont été aussi retrouvées positives en larves de *Culicidea* à Sonsoró (3,45%), à Kossarou (50%) et à Thui (14,29%).

Tableau VI: Diversité saisonnière des habitats larvaires dans les secteurs S+ S++ entre mai 2012 et Avril 2013 en fonction des saisons

| Secteurs    | Localités                   | Saison pluvieuse |                      |                | Saison sèche |                      |                | Total |                      |                |
|-------------|-----------------------------|------------------|----------------------|----------------|--------------|----------------------|----------------|-------|----------------------|----------------|
|             |                             | Total 1          | %                    | IC-95%         | Total 2      | %                    | IC-95%         | Total | %                    | IC-95%         |
| Secteur S+  | Collection d'eau de pluie   | 13               | 37,14 <sup>a,b</sup> | [21,47- 55,08] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 11,95] | 13    | 20,31 <sup>a</sup>   | [11,28- 32,22] |
|             | Trous divers                | 5                | 14,29 <sup>b,c</sup> | [04,81- 30,26] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 11,95] | 5     | 7,81 <sup>b</sup>    | [02,53- 17,30] |
|             | Nappe superficielle         | 1                | 2,86 <sup>c</sup>    | [00,07- 14,92] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 11,95] | 1     | 1,56 <sup>b</sup>    | [00,04- 08,40] |
|             | Habitat domestique          | 15               | 42,86 <sup>b</sup>   | [26,32- 60,65] | 21           | 72,41 <sup>b</sup>   | [34,85- 98,73] | 36    | 56,25 <sup>a,c</sup> | [09,90- 81,59] |
|             | Puit/citerne                | 0                | 0,00 <sup>c</sup>    | [00,00- 10,00] | 2            | 6,90 <sup>a</sup>    | [00,85- 22,77] | 2     | 3,13 <sup>b</sup>    | [00,38- 10,84] |
|             | Autour des bornes fontaines | 0                | 0,00 <sup>c</sup>    | [00,00- 10,00] | 2            | 6,90 <sup>a</sup>    | [00,85- 22,77] | 2     | 3,13 <sup>b</sup>    | [00,38- 10,84] |
|             | Collection d'eau polluée    | 0                | 0,00 <sup>c</sup>    | [00,00- 10,00] | 1            | 3,45 <sup>a</sup>    | [00,09- 17,77] | 1     | 1,56 <sup>b</sup>    | [00,05- 08,40] |
|             | Autres                      | 1                | 2,86 <sup>c</sup>    | [00,07- 14,92] | 3            | 10,34 <sup>a</sup>   | [02,19- 27,35] | 4     | 6,25 <sup>b</sup>    | [01,73- 15,24] |
|             | Total                       | 35               | 100,00               | -              | 29           | 100,00               | -              | 64    | 100,00               | -              |
|             | Collection d'eau de pluie   | 29               | 82,86 <sup>a</sup>   | [66,35- 93,44] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 29    | 64,44 <sup>a</sup>   | [48,78- 78,13] |
| Secteur S++ | Trous divers                | 2                | 5,71 <sup>b</sup>    | [00,70- 19,16] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 2     | 4,44 <sup>b</sup>    | [00,54- 15,15] |
|             | Nappe superficielle         | 1                | 2,86 <sup>b</sup>    | [00,70- 14,92] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 1     | 2,22 <sup>b</sup>    | [00,06- 11,77] |
|             | Habitat domestique          | 0                | 0,00 <sup>b</sup>    | [00,00- 10,00] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 0     | 0,00 <sup>c</sup>    | [00,00- 07,87] |
|             | Puit/citerne                | 0                | 0,00 <sup>b</sup>    | [00,00- 10,00] | 7            | 70,00 <sup>b</sup>   | [34,75- 93,33] | 7     | 15,56 <sup>d</sup>   | [06,49- 29,46] |
|             | Autour des bornes fontaines | 2                | 5,71 <sup>b</sup>    | [00,70- 19,16] | 3            | 30,00 <sup>a,b</sup> | [06,67- 65,25] | 5     | 11,11 <sup>d</sup>   | [03,71- 24,05] |
|             | Collection d'eau polluée    | 1                | 2,86 <sup>b</sup>    | [00,70- 14,92] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 1     | 2,22 <sup>b</sup>    | [00,06- 11,77] |
|             | Total                       | 35               | 100,00               | -              | 10           | 100,00               | -              | 45    | 100,00               | -              |
|             | Collection d'eau de pluie   | 34               | 65,38 <sup>a</sup>   | [50,91- 78,03] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 34    | 54,84 <sup>a</sup>   | [41,68- 67,52] |
| Secteur S++ | Trous divers                | 6                | 11,54 <sup>b</sup>   | [04,35- 23,44] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 6     | 9,68 <sup>b</sup>    | [03,63- 19,88] |
|             | Habitat domestique          | 11               | 21,15 <sup>b,c</sup> | [11,70- 46,42] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 30,85] | 11    | 17,74 <sup>b,c</sup> | [08,42- 31,01] |
|             | Puit/citerne                | 0                | 0,00 <sup>d</sup>    | [00,00- 06,85] | 5            | 50,00 <sup>b</sup>   | [18,71- 81,29] | 5     | 8,06 <sup>b</sup>    | [02,67- 17,83] |
|             | Collection d'eau polluée    | 1                | 1,92 <sup>d</sup>    | [00,05- 16,26] | 5            | 50,00 <sup>b</sup>   | [18,71- 81,29] | 6     | 9,68 <sup>b</sup>    | [03,63- 19,88] |
|             | Total                       | 52               | 100,00               | -              | 10           | 100,00               | -              | 62    | 100,00               | -              |
| Secteur S++ | Collection d'eau de pluie   | 7                | 77,78 <sup>a</sup>   | [39,99- 97,19] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 40,96] | 7     | 43,75 <sup>a</sup>   | [19,75- 70,12] |
|             | Trous divers                | 2                | 22,22 <sup>a,b</sup> | [02,81- 60,01] | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00- 40,96] | 2     | 12,50 <sup>b</sup>   | [01,67- 99,30] |
|             | Habitat domestique          | 0                | 0,00 <sup>b</sup>    | [00,00- 33,63] | 3            | 42,86 <sup>a,b</sup> | [09,90- 81,59] | 3     | 18,75 <sup>a,b</sup> | [04,05- 45,65] |
|             | Puit/citerne                | 0                | 0,00 <sup>b</sup>    | [00,00- 33,63] | 3            | 42,86 <sup>a,b</sup> | [09,90- 81,59] | 3     | 18,75 <sup>a,b</sup> | [04,05- 45,65] |
|             | Collection d'eau polluée    | 0                | 0,00 <sup>b</sup>    | [00,00- 33,63] | 1            | 14,29 <sup>a,c</sup> | [00,36- 57,87] | 1     | 6,25 <sup>b,c</sup>  | [00,19- 30,23] |
|             | Total                       | 9                | 100,00               | -              | 7            | 100,00               | -              | 16    | 100,00               | -              |
| Totaux      |                             | 131              | 70,05                | [63,49- 76,62] | 56           | 29,95                | [23,38- 36,51] | 187   | 100,00               | -              |

### 2.3. Genres de moustiques identifiés dans les gîtes recensés

Nous avons identifié 3 principaux genres de moustiques dans les habitats larvaires des secteurs S+ et S++. Il s'agit des genres *Anopheles*, *Culex* et *Aedes* (tableau VII). Les gîtes larvaires recensés étaient soit exclusifs (un seul genre de moustique dans l'habitat larvaire), soit mixtes (deux ou trois genres de moustiques retrouvés en sympatrie). Le type de gîte prédominant dans une localité ne dépendait pas du degré d'aridité du milieu, et donc du secteur. Il est plutôt fonction de la période de l'année (saison pluvieuse versus saison sèche) et de la nature du site (rural *versus* urbain ou peri-urbain).

En effet, en zone rurale (Sonsoró et Thui) et péri-urbaine (Pèdè), les gîtes larvaires exclusifs de *Anopheles* ont été les plus échantillonnés dans la saison des pluies représentant respectivement 48,57% ; 33,33% et 80% du nombre de gîtes identifiés àonsoró (secteur S+), Thui (secteur S++) et Pèdè (secteur S+). A cette période de l'année, très peu d'habitats larvaires de *Culex* ont été enregistrés dans les trois localités susmentionnées. En zone urbaine (Kossarou) par contre, les gîtes à *Culex* étaient les plus échantillonnés pendant la saison pluvieuse (46,15 %).

Pour ce qui est de la situation pendant la saison sèche, nous avons observé en zone rurale, péri-urbaine et urbaine, une diminution significative de la proportion de gîtes exclusifs de *Anopheles* et une augmentation des gîtes de *Culex* alors qu'en zone rurale, la situation est restée la même. Pendant les périodes de sécheresse, les larves d'anophèles ont principalement été échantillonnées dans les habitats mixtes, en particulier dans des gîtes sympatriques *Culex/Anopheles*. Ces types de gîtes constituent 51,72 % et 70 % des habitats larvaires identifiés pendant la saison sèche respectivement àonsoró et à Pèdè.

Tableau VII: type de gîtes rencontrés par saison dans les secteurs S+ et S++ en fonction des genres de moustiques qu'ils abritent

| Secteurs       | Sites                     | Genres des larves<br>de moustiques | Saison pluvieuse |                      |                     | Saison sèche |                      |               | Total |                      |               |
|----------------|---------------------------|------------------------------------|------------------|----------------------|---------------------|--------------|----------------------|---------------|-------|----------------------|---------------|
|                |                           |                                    | Total 1          | %                    | CI-95% <sup>4</sup> | Total 2      | %                    | CI-95%        | Total | %                    | CI-95%        |
| Secteur<br>S+  | Sonsorò<br>(rural)        | <i>Anopheles</i>                   | 17               | 48,57 <sup>a</sup>   | [31,38-66,01]       | 2            | 6,90 <sup>a,b</sup>  | [00,85-22,77] | 19    | 29,69 <sup>a</sup>   | [18,91-42,42] |
|                |                           | <i>Culex</i>                       | 6                | 17,14 <sup>b,c</sup> | [06,56-33,65]       | 8            | 27,58 <sup>a,c</sup> | [12,73-47,24] | 14    | 21,88 <sup>a</sup>   | [12,51-33,97] |
|                |                           | <i>Aedes</i>                       | 0                | 0,00 <sup>c</sup>    | [00,00-10,00]       | 1            | 3,45 <sup>b</sup>    | [00,09-17,76] | 1     | 1,56 <sup>b</sup>    | [00,04-08,40] |
|                |                           | <i>Anopheles</i> et <i>Culex</i>   | 10               | 28,57 <sup>a,b</sup> | [14,64-46,30]       | 15           | 51,72 <sup>c</sup>   | [32,53-70,55] | 25    | 39,06 <sup>a</sup>   | [27,10-52,07] |
|                |                           | <i>Anopheles</i> et <i>Aedes</i>   | 1                | 2,86 <sup>c</sup>    | [00,07-14,92]       | 2            | 6,90 <sup>a,b</sup>  | [00,85-22,77] | 3     | 4,69 <sup>b</sup>    | [00,98-13,09] |
|                |                           | <i>Culex</i> et <i>Aedes</i>       | 1                | 2,86 <sup>c</sup>    | [00,07-14,92]       | 1            | 3,45 <sup>b</sup>    | [00,09-17,76] | 2     | 3,12 <sup>b</sup>    | [00,38-10,84] |
|                |                           | Total                              | 35               | 100                  | [90,00-100,0]       | 29           | 100                  | [90,00-100,0] | 64    | 100                  | [90,00-100,0] |
|                | Pèdè<br>(peri-<br>urbain) | <i>Anopheles</i>                   | 28               | 80,00 <sup>a</sup>   | [64,18-93,26]       | 3            | 30,00 <sup>a,b</sup> | [06,67-65,25] | 31    | 68,89 <sup>a</sup>   | [38,13-86,93] |
|                |                           | <i>Culex</i>                       | 1                | 2,86 <sup>b</sup>    | [00,07-14,92]       | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00-30,85] | 1     | 2,22 <sup>b</sup>    | [00,03-14,65] |
|                |                           | <i>Anopheles</i> et <i>Culex</i>   | 5                | 14,28 <sup>b</sup>   | [00,07-14,92]       | 7            | 70,00 <sup>b</sup>   | [34,75-93,33] | 12    | 26,67 <sup>c</sup>   | [12,02-47,06] |
|                |                           | <i>Anopheles</i> et <i>Aedes</i>   | 1                | 2,86 <sup>b</sup>    | [00,07-14,92]       | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00-30,85] | 1     | 2,22 <sup>b</sup>    | [00,03-14,65] |
|                |                           | Total                              | 35               | 100                  | [90,00-100,0]       | 10           | 100                  | [90,00-100,0] | 45    | 100                  | [90,00-100,0] |
| Secteur<br>S++ | Kossarou<br>(urbain)      | <i>Anopheles</i>                   | 19               | 36,54 <sup>a</sup>   | [23,62-51,04]       | 2            | 20,00 <sup>a</sup>   | [00,52-55,61] | 21    | 33,87 <sup>a</sup>   | [22,33-47,01] |
|                |                           | <i>Culex</i>                       | 24               | 46,15 <sup>a</sup>   | [32,23-60,53]       | 7            | 70,00 <sup>a,b</sup> | [34,75-93,33] | 31    | 50,00 <sup>a</sup>   | [37,02-62,98] |
|                |                           | <i>Aedes</i>                       | 1                | 1,92 <sup>b</sup>    | [00,05-10,26]       | 0            | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00-30,85] | 1     | 1,61 <sup>b</sup>    | [00,04-08,66] |
|                |                           | <i>Anopheles</i> et <i>Culex</i>   | 8                | 15,39 <sup>c</sup>   | [06,88-28,08]       | 1            | 10,00 <sup>a</sup>   | [00,25-44,50] | 9     | 14,52 <sup>c</sup>   | [06,86-25,78] |
|                |                           | Total                              | 52               | 100                  | [90,00-100,0]       | 10           | 100                  | [90,00-100,0] | 62    | 100                  | [90,00-100,0] |
|                | Thui<br>(rural)           | <i>Anopheles</i>                   | 3                | 33,33 <sup>a</sup>   | [07,49-70,07]       | 1            | 14,29 <sup>a</sup>   | [00,36-57,87] | 4     | 25,00 <sup>a,b</sup> | [07,27-52,38] |
|                |                           | <i>Culex</i>                       | 0                | 0,00 <sup>a</sup>    | [00,00-33,63]       | 2            | 28,57 <sup>a</sup>   | [03,67-70,96] | 2     | 12,50 <sup>a,b</sup> | [01,55-38,35] |
|                |                           | <i>Aedes</i>                       | 6                | 66,67 <sup>a</sup>   | [29,93-92,51]       | 4            | 57,14 <sup>a</sup>   | [18,41-90,10] | 10    | 62,50 <sup>b</sup>   | [35,43-84,80] |
|                |                           | Total                              | 9                | 100                  | [90,00-100,0]       | 7            | 100                  | [90,00-100,0] | 16    | 100                  | [90,00-100,0] |
|                |                           | Totaux                             | 131              | 70,05                | [63,49-76,62]       | 56           | 29,95                | [23,38-36,51] | 187   | 100                  | [90,00-100,0] |

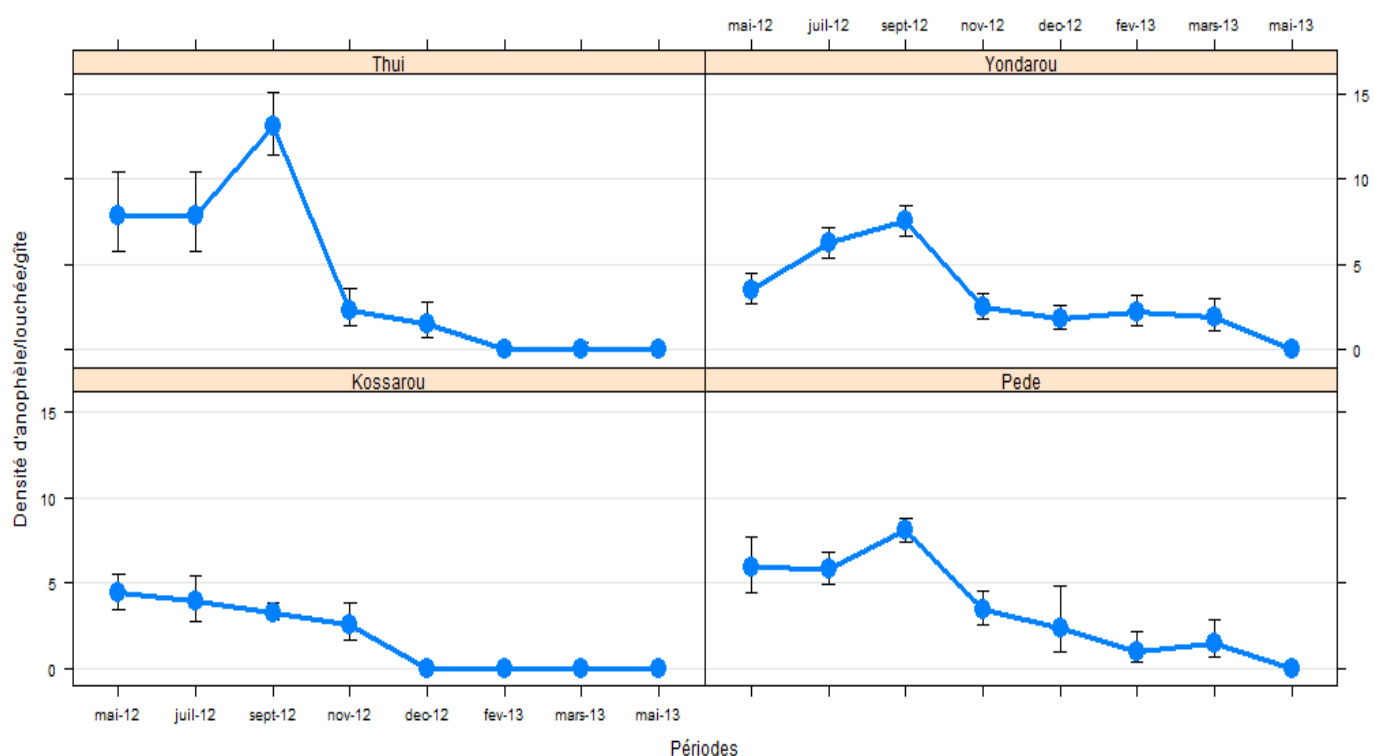
## **2.4. Estimation de la densité larvaire des anophèles dans les gîtes recensés**

Pour évaluer la dynamique des densités larvaires des anophèles, nous avons préféré traiter les données par mission au lieu de les regrouper par saison. Les densités de larves d'anophèles par louchée (60 ml d'eau) sont plus importantes pendant la saison pluvieuse que pendant la saison sèche et ceci dans tous les deux secteurs (Tableau VIII). La plus forte densité larvaire de toute la saison pluvieuse a été enregistrée à Thui, un village du secteur S++ avec 13,13 larves/louchée (IC-95% : [11.36-15.10]).

L'influence du degré d'aridité des différents secteurs a été surtout remarquée pendant la saison sèche. En effet, les prospections larvaires ont été infructueuses dans les deux localités du secteur S++ (Kossarou, Thui) ; en conséquence de novembre 2012 à avril 2013, les densités larvaires d'anophèles n'ont pu être calculées dans ce secteur. Dans les localités du secteur S+ par contre, des gîtes positifs d'anophèles ont été identifiés pendant la saison sèche bien que les précipitations ne fussent plus d'actualité. Pour ces gîtes résiduels, les densités étaient faibles, variant de 1 larve/louchée (IC-95% : [00.37-02.18]) à 3,47 larves/louchée (IC-95% : [02.59-04.55]). L'évolution de la densité de larves d'anophèles par louchée, par gîte et par village est représentée sur la figure 19. Les plus fortes densités larvaires ont été enregistrées dans le mois de septembre 2012 à l'exception de Kossarou où nous avons enregistré de très faibles densités larvaires tout au long de la période d'étude.

**Tableau VIII** : estimation de la densité larvaire exprimée en nombre de larves d'anophèles par louchée en fonction des saisons

| Secteurs    | Villages     | Périodes         | N larves/ 3 louchées | N gîtes d'anophèles | N larve/louchée/gîte | IC-95%              |                     |               |
|-------------|--------------|------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------|
| Secteur S++ | Sonsoro      | Saison pluvieuse | mai-12               | 63                  | 06                   | 3.50 <sup>a</sup>   | [02.69-04.48]       |               |
|             |              |                  | juil-12              | 187                 | 10                   | 6.23 <sup>b</sup>   | [05.37-07.20]       |               |
|             |              |                  | sept-12              | 271                 | 12                   | 7.53 <sup>b</sup>   | [06.65-08.48]       |               |
|             |              |                  | nov-12               | 52                  | 07                   | 2.48 <sup>a,c</sup> | [01.85-03.25]       |               |
|             |              |                  | Saison sèche         | dec-12              | 27                   | 05                  | 1.80 <sup>c</sup>   | [01.19-02.62] |
|             |              |                  |                      | fev-13              | 26                   | 04                  | 2.17 <sup>a,c</sup> | [01.41-03.18] |
|             |              | mars-13          | 17                   | 03                  | 1.89 <sup>a,c</sup>  | [01.10-03.03]       |                     |               |
|             |              | Pede             | Saison pluvieuse     | mai-12              | 53                   | 03                  | 5.89 <sup>a</sup>   | [04.41-07.71] |
|             |              |                  |                      | juil-12             | 158                  | 09                  | 5.85 <sup>a</sup>   | [04.97-06.84] |
|             | sept-12      |                  |                      | 532                 | 22                   | 8.06 <sup>b</sup>   | [07.38-08.78]       |               |
|             | Saison sèche |                  | nov-12               | 52                  | 05                   | 3.47 <sup>c</sup>   | [02.59-04.55]       |               |
|             |              |                  | dec-12               | 07                  | 01                   | 2.33 <sup>c,d</sup> | [00.94-04.81]       |               |
|             |              |                  | fev-13               | 06                  | 02                   | 1.00 <sup>d</sup>   | [00.37-02.18]       |               |
|             | mars-13      | 09               | 02                   | 1.50 <sup>d</sup>   | [00.69-02.85]        |                     |                     |               |
|             | Secteur S++  | Kossarou         | Saison pluvieuse     | mai-12              | 79                   | 06                  | 4.39 <sup>a</sup>   | [03.47-05.47] |
| juil-12     |              |                  |                      | 35                  | 03                   | 3.89 <sup>a,c</sup> | [02.71-05.41]       |               |
| sept-12     |              |                  |                      | 177                 | 18                   | 3.28 <sup>a,c</sup> | [02.81-03.80]       |               |
|             |              |                  | nov-12               | 23                  | 03                   | 2.56 <sup>c</sup>   | [01.62-03.84]       |               |
|             |              |                  | Saison sèche         | dec-12              | 0                    | 0                   | 0                   | -             |
|             |              |                  |                      | fev-13              | 0                    | 0                   | 0                   | -             |
| mars-13     |              |                  | 0                    | 0                   | 0                    | -                   |                     |               |
| Thui        |              |                  | Saison pluvieuse     | mai-12              | 47                   | 2                   | 7.83 <sup>a</sup>   | [05.75-10.42] |
|             |              |                  |                      | juil-12             | 47                   | 2                   | 7.83 <sup>a</sup>   | [05.75-10.42] |
|             |              | sept-12          |                      | 197                 | 5                    | 13.13 <sup>b</sup>  | [11.36-15.10]       |               |
|             |              | Saison sèche     | nov-12               | 21                  | 3                    | 2.33 <sup>c</sup>   | [01.44-03.57]       |               |
|             |              |                  | dec-12               | 9                   | 2                    | 1.50 <sup>c</sup>   | [00.69-02.85]       |               |
|             |              |                  | fev-13               | 0                   | 0                    | 0                   | -                   |               |
| mars-13     |              | 0                | 0                    | 0                   | -                    |                     |                     |               |



**Figure 17:** Evolution de la densité larvaire (nombre de larves d'anophèles/louchée/gîte/village) en fonction de la période de l'année

## 2.5. Cartographie des gîtes larvaires de moustique

### 2.5.1 Distribution des gîtes de reproduction de moustiques

Les données issues du tracé des sites d'étude et du géoréférencement des gîtes de moustiques au cours des missions successives ont permis d'élaborer des cartes de distributions des gîtes de culicidés grâce à un Système d'Information Géographique (SIG). Les cours d'eau permanent (ou semi-permanent) et temporaires y sont représentés.

L'analyse des données révèle que le secteur S+, les cours d'eau de Sonsoro (Sonsoro) et de Pèdè (Yagasso) se sont asséchés pendant la sécheresse mais n'ont pas entièrement tari malgré la très forte aridité. Par contre, dans le secteur S++, les systèmes hydrographiques de Kossarou et de Thui sont constitués de ruisseaux, qui disparaissent juste après les pluies. Dans ces deux localités du secteur S++, la situation en saison sèche est telle que, aucune eau de surface n'a été observée.

La cartographie réalisée montre une prolifération des gîtes de reproduction de moustiques pendant la saison pluvieuse (Figures 18a, 19a, 20a) indépendamment des secteurs. Mais la

situation est différente pendant la saison sèche. A Pèdè dans le secteur S+, et à Kossasou et Thui dans le secteur S++, très peu de gîtes de moustiques ont été retrouvés au cours de cette période de l'année (Figure 19b, 20b, 21b). Dans la seconde localité du secteur S+ (Sonsorou) par contre, l'aridité de la saison sèche ne semble pas avoir fondamentalement influencé la distribution observée au niveau des gîtes de moustiques pendant la saison pluvieuse (Figure 18a et 18b).

Par ailleurs, dans tous les 4 villages étudiés, les gîtes exclusifs et/ou mixtes d'anophèles et de *Culex* sont majoritaires. Néanmoins, il est important de souligner que la prolifération des gîtes d'anophèles a significativement été réduite pendant la saison sèche dans les deux secteurs.

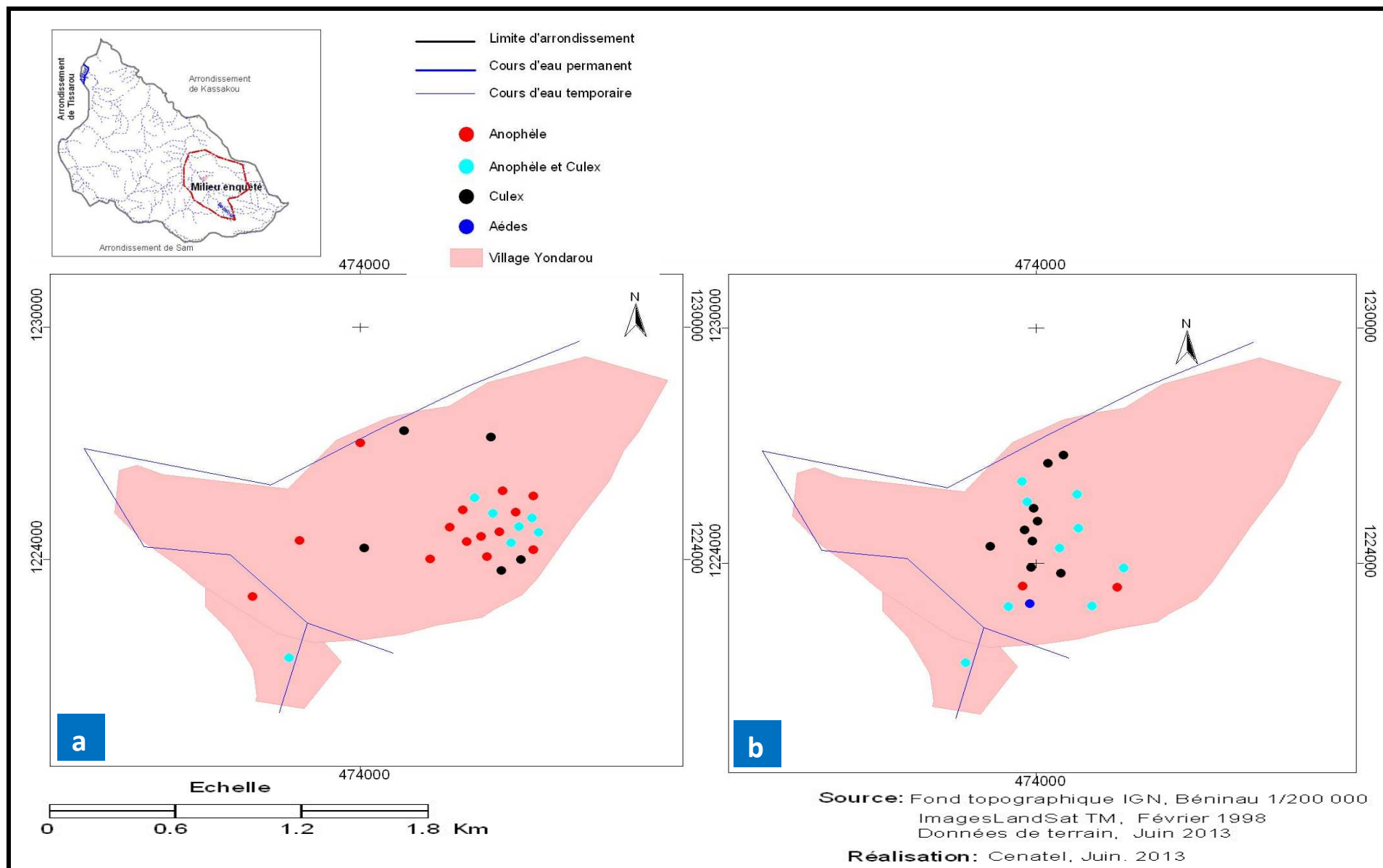
La géospatialisation de Kossarou situé dans le secteur S++, montre qu'il existe bon nombre de gîtes larvaires d'anophèles au-delà des limites de la localité (Figure 20a), ce qui n'écarterait pas le risque de piqûre des anophèles adultes et indirectement la transmission du paludisme en raison de leur inévitable dispersion.

### **2.5.2 Habitats larvaires d'anophèles pendant la saison sèche**

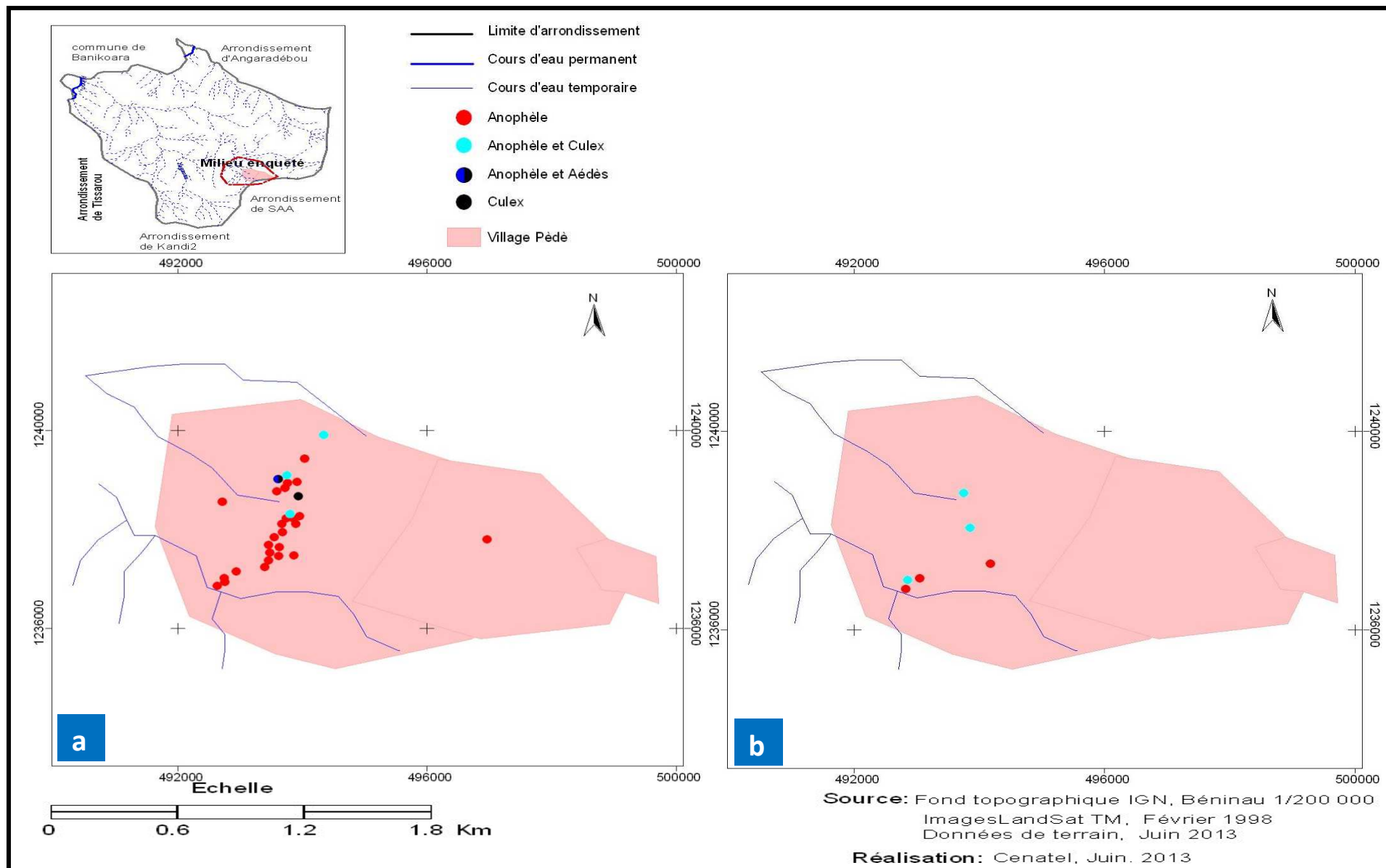
Un total de 26 habitats larvaires d'anophèles (exclusifs et mixtes) ont été identifiés dans les deux secteurs (S+ et S++) au cours de la saison sèche (Novembre 2012-April 2013). L'analyse des données a montré que dans la plupart des habitats larvaires d'anophèles pendant la sécheresse étaient des gîtes domestiques (61,54%) (Tableau IX). Par ailleurs, dans le secteur S+, les larves d'anophèles ont également été échantillonnées autour des bornes fontaines publiques (41,66% des gîtes de saison sèche à Sonsorou et 16,70% à Pèdè) alors que dans le secteur plus aride S++, certaines collections d'eau polluées ont été positives en larves d'anophèles (33,30% des gîtes de saison sèche à Kossarou et 20% à Thui).

**Tableau IX:** Habitats larvaires d'anophèles durant la sécheresse

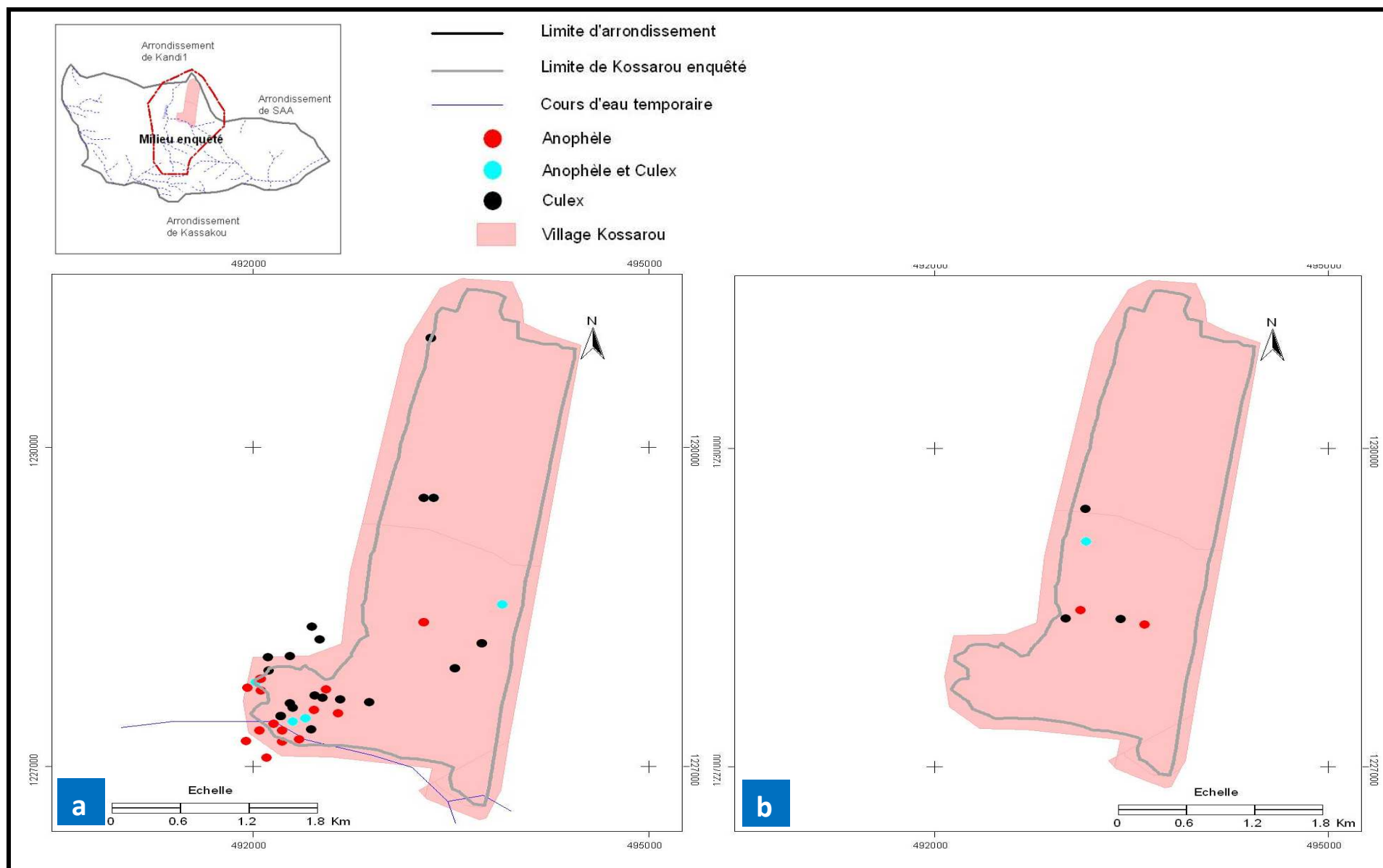
| Village     |          | Trous divers | Habitats domestiques | Puits               | Collections d'eau polluée | Autour des bornes fontaines | Total               |
|-------------|----------|--------------|----------------------|---------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Secteur S+  | Sonsoro  | N            | 1                    | 6                   | 0                         | 0                           | 12                  |
|             |          | %            | 8,33%                | 50,00%              | 0,00%                     | 0,00%                       | 100,00%             |
|             | Pede     | N            | 0                    | 5                   | 0                         | 1                           | 6                   |
|             |          | %            | 0,00%                | 83,30%              | 0,00%                     | 16,70%                      | 100,00%             |
| Secteur S++ | Kossarou | N            | 0                    | 2                   | 0                         | 1                           | 3                   |
|             |          | %            | 0,00%                | 66,70%              | 0,00%                     | 33,30%                      | 100,00%             |
|             | Thui     | N            | 0                    | 3                   | 1                         | 0                           | 5                   |
|             |          | %            | 0,00%                | 60,00%              | 20,00%                    | 20,00%                      | 100,00%             |
| Total       |          | N            | 1                    | 16                  | 1                         | 2                           | 26                  |
|             |          | %            | 3,85% <sup>a</sup>   | 61,54% <sup>b</sup> | 3,85% <sup>a</sup>        | 7,69% <sup>a,c</sup>        | 23,07% <sup>c</sup> |



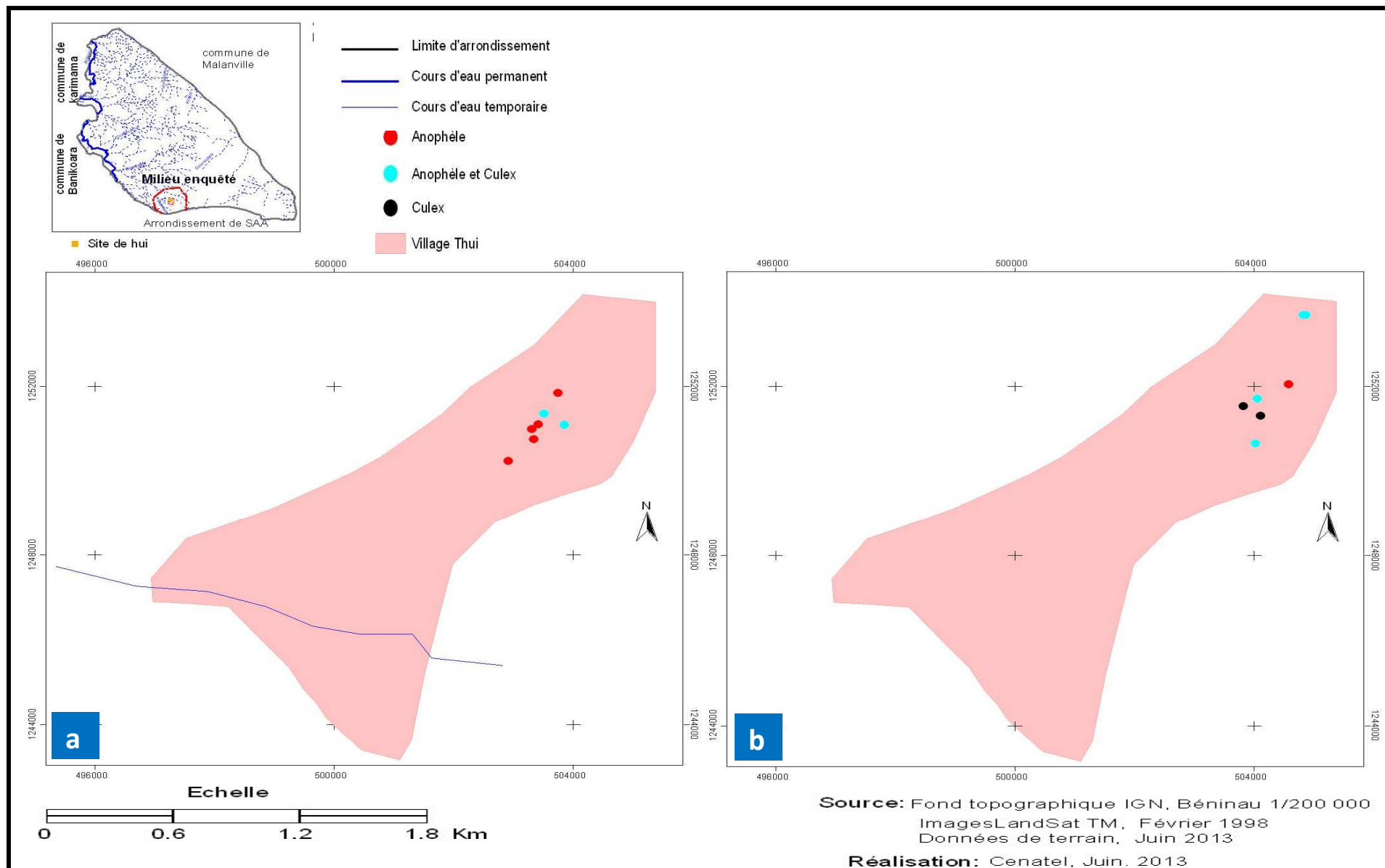
**Figure 18:** distribution des gîtes de reproduction de moustique à Sonso (secteur S+) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)



**Figure 19:** distribution des gîtes de reproduction de moustique à Pèdè (secteur S+) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)



**Figure 20:** distribution des gîtes de reproduction de moustique à Kossarou (secteur S++) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)



**Figure 21:** distribution des gîtes de reproduction de moustique dans le village de Thui (secteur S++) en saison pluvieuse (a) et en saison sèche (b)

### 3. Discussion et conclusion

#### 3.1. Discussion

La connaissance du réseau hydrographique du milieu, de l'écologie et de la distribution des gîtes de reproduction des moustiques sont des données préalables dont nous avons eu besoin avant d'entamer l'étude proprement dite sur le phénomène d'estivation des anophèles dans les conditions de terrain. Ces données nous ont permis de situer les villages dépourvus de tout cours d'eau pendant la saison sèche et ceux où on peut distinguer quelques bras de cours d'eau permanents ou semi permanents. Les localités que nous avons identifiées dans le secteur S++ (localités situées très loin des cours d'eau) présentent un caractère beaucoup plus aride que celles du secteur S+ qui abritent chacun un cours d'eau permanent (ou semi-permanent). Le choix de ces deux secteurs a pour but d'étudier les habitats larvaires potentiels de moustiques pendant les saisons sèches de longue durée dans un groupe de localités très arides comparativement à un autre groupe de localités un peu moins arides où la production de moustiques ne serait pas interrompue au cours de ces périodes de l'année en raison de la proximité avec les cours d'eau.

L'étude de la distribution des gîtes de moustiques implique forcément une recherche minutieuse des stades préimaginaux de moustiques sur toute la surface des sites identifiés, y compris dans la végétation. C'est pourquoi nous avons veillé à choisir des localités où les gîtes sont accessibles et où les moindres recoins pourraient facilement être sillonnés et prospectés. A cet effet, Pèdè, Kossarou, Sonsoro et Thui ne présentent pas de végétation dense ou de forêt pouvant limiter les prospections larvaires à seulement une partie de leur superficie.

La recherche des larves était aisée et les gîtes ont été très prolifiques en larves de moustiques en saison pluvieuse indépendamment du degré d'aridité des deux secteurs étudiés. La plupart des gîtes dénombrés étaient des collections d'eau de pluies. En effet, plusieurs études font état d'une très forte densité anophélienne juste après les premières pluies. L'explication proposée par Fontenille *et al.* (1997) puis Touré *et al.* (1998) et Yaro *et al.* (2012) indique que les anophèles résiduels (ceux qui résistent et parviennent à survivre toute la saison) qui connaissent une baisse des performances de reproduction et conservent les œufs dans leurs ovaires pendant la saison sèche en raison de l'absence des gîtes de ponte se libèrent et pondent dès les premières pluies car les conditions redeviennent meilleures.

En effet, la disponibilité des gîtes de ponte est une condition nécessaire à l'oviposition chez les femelles gravides estivantes. Par ailleurs, pendant les périodes de pluies, la régularité des précipitations associée à une faible intensité de l'ensoleillement prolonge l'existence des gîtes larvaires. C'est ainsi que de mai à septembre 2012 (saison pluvieuse), les gîtes ont été régulièrement identifiés dans les 4 sites d'étude que nous avons prospectés. Mais dès le retour de la sécheresse, le nombre de gîtes rencontrés a significativement diminué dans les deux secteurs (S+ et S++). Le peu de larves échantillonnées au cours de cette période provient surtout des gîtes domestiques et des puits. Les gîtes classiques étant asséchés du fait de la très forte aridité, certains moustiques gravides (anophèles y compris) choisissent des gîtes inhabituels pour la ponte. C'est ainsi que certaines collections d'eau polluée étaient positives en larves d'anophèles. Aussi, certains périmètres de bornes fontaines malgré la forte fréquentation due à la forte demande en eau pendant la sécheresse, hébergeaient des gîtes positifs en larves d'anophèles.

En ce qui concerne la densité des larves échantillonnées dans les villages prospectés, les anophèles viennent en tête. Trois genres de moustiques ont été retrouvés dans les deux secteurs. Dans certains gîtes, ils sont retrouvés en sympatrie avec les *Aedes* et les *Culex*. L'hypothèse de la présence d'autres genres de culicidés n'est pas exclue. D'autres genres de moustiques existent probablement dans les villages prospectés, mais n'ont pas pu être repérés car les louchées ne peuvent pas permettre de récolter toutes les larves de moustiques présentes dans un gîte. Les larves d'anophèles ont été majoritairement récoltées à Thui dans le secteur S++ et à Pèdè et Sonsoro dans le secteur S+, sauf à Kossarou dans le secteur S+ où les larves de culex ont été les plus rencontrées. Cela confirme l'urbanisation relativement avancée de Kossarou, situé au centre-ville de Kandi, par rapport aux trois autres localités.

L'évolution de la densité des larves d'anophèles dans les gîtes habituels et mixtes est liée aux saisons. Dans toutes les localités prospectées, les fortes densités de larves d'anophèles sont enregistrées en saison pluvieuse, ce qui confirme que le risque de transmission du paludisme est réel au cours de cette période de l'année (Fontenille *et al*, 1997).

La cartographie des gîtes que nous avons réalisée dans les sites d'étude présente les différents genres de moustiques rencontrés. Elle est une représentation du risque encourue par la population dans chaque secteur de la zone d'étude en matière de la transmission du paludisme et autres maladies vectorielles. La cartographie que nous avons réalisée a pris en compte les gîtes larvaires situés aux alentours de chaque site, jusqu'à 2 km pour tenir compte des possibilités de dispersion des moustiques. En effet, les anophèles peuvent se disperser dans un rayon d'un kilomètre autour de leur gîte. Pour *An. gambiae s.s.*, ce rayon de dispersion autour des gîtes varie en moyenne entre 1 et 1,6 km (Rajagopalan *et al.*, 1991). Nous admettons donc que les moustiques provenant des gîtes situés en dehors d'un village peuvent aller piquer l'homme à l'intérieur de ce village. Cependant, les cartes de distribution

des gîtes larvaires que nous avons réalisées sont dépendantes de la pluviométrie qui a prévalu au moment de la collecte des données. Cela signifie donc que les représentations graphiques effectuées peuvent changer selon les données pluviométriques. Pour disposer d'une cartographie complète de la distribution des gîtes larvaires, on devrait considérer les données de plusieurs années en tenant compte de la variation des modes de précipitations.

### **3.2. Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons exploré la répartition spatio-temporelle des habitats larvaires et la diversité des stades pré-imaginaux de moustiques dans des localités de degré d'aridité variable. Nos données révèlent que même si la saison pluvieuse est la période de prolifération par excellence des gîtes de reproduction de culicidés, il existe pendant les périodes de sécheresse, certains gîtes inhabituels qui assurent le maintien de la reproduction des moustiques lorsque la plupart des habitats classiques disparaissent. Les jarres, les canaris, et autres récipients d'usage domestiques ont été les principaux habitats larvaires identifiés pendant la longue sécheresse qui sévit dans la commune de Kandi. Nos données montrent une nette diminution des gîtes larvaires d'anophèles dans les deux secteurs étudiés, indépendamment de leur degré d'aridité respectif. De même, les densités larvaires d'anophèles enregistrées pendant la sécheresse sont très faibles dans les localités prospectées. Cet état des lieux sert de données préliminaires à l'étude de la dynamique des populations adultes d'anophèles dans les deux secteurs (S+ et S++), et leur infectivité au *Plasmodium falciparum* afin d'évaluer la situation du paludisme au cours des saisons sèches de longue durée.

## **Chapitre 5 :**

---

**Etude de la dynamique de population,  
des caractéristiques moléculaires et de  
l'infectivité au *Plasmodium falciparum*  
des anophèles vecteurs du paludisme**

## 1. Introduction

L'étude de la dynamique des populations de moustiques est une donnée essentielle qui renseigne sur l'exposition des personnes aux piqûres. Dans ce chapitre, nous avons évalué, pendant les périodes de sécheresse, le degré d'agressivité des moustiques et le risque entomologique lié au paludisme à travers la recherche des spécimens d'anophèles potentiellement infectés au *Plasmodium falciparum*. Pour atteindre les objectifs fixés, la composition de la faune culicidienne a été étudiée pendant deux saisons pluvieuses et une saison sèche, sur une période de 17 mois, de mai 2012 à septembre 2013.

Les enquêtes entomologiques ont été effectuées dans quatre localités de la municipalité de Kandi, au nord-est du Bénin. Il s'agit de Sonsoro, Pèdè, Kossarou et Thui. Pour faciliter la compréhension, nous avons classé ces quatre localités en deux secteurs : Sonsoro et Pèdè appartenant à une zone moins aride sont classés dans le Secteur S+, le symbole + indiquant le degré d'aridité de la zone ; les localités Kossarou et Thui plus arides constituent le Secteur S++. Le secteur S+ est caractérisé par la proximité d'un cours d'eau permanent alors que le Secteur S++ est plus aride avec l'absence de cours d'eau de surface. En ce qui concerne l'échantillonnage des moustiques, les captures sur appâts humains ont été effectuées dans une localité du Secteur S+ (Sonsoro) et du Secteur S++ (Kossarou). Les captures par pièges-fenêtres et par aspersion de bombes aérosols à l'intérieur des maisons ont été effectuées dans les quatre localités S+ et S++.

Les résultats concernant ce chapitre de notre thèse et le chapitre suivant ont été publiés dans l'article 4.

Govoetchan et al. *Parasites & Vectors* 2014, 7:79  
<http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/79>



**Parasites  
& Vectors**

**RESEARCH**

**Open Access**

# Evidence for perennial malaria in rural and urban areas under the Sudanian climate of Kandi, Northeastern Benin

Renaud Govoetchan<sup>1,2\*</sup>, Virgile Gnanguenon<sup>1,2</sup>, Roseric Azondékon<sup>1,3</sup>, Rodrigue Fiacre Agossa<sup>1,2</sup>, Arthur Sovi<sup>1,2</sup>, Frédéric Oké-Agbo<sup>1</sup>, Razaki Ossè<sup>1,2</sup> and Martin Akogbéto<sup>1,2</sup>

## 2. Composition et caractéristique de la faune culicidienne

La faune culicidienne a été très diversifiée dans les sites d'étude. Au total 2210 moustiques appartenant à 15 espèces ont été échantillonnés à Sonsoro, Kossarou, Pèdè et Thui pendant les dix missions d'enquêtes entomologiques effectuées entre mai 2012 et septembre 2013. Parmi les moustiques collectés, 1495 spécimens (67,65%) appartenaient au genre *Anopheles*, 685 (31%) au genre *Culex*, 29 (1,09%) au genre *Aedes* et 3 (0,14%) au genre *Mansonia*. Le nombre de moustiques vecteurs du paludisme capturés au cours de notre étude était de 1488 représentant 67,33% du total de *Culicidés* échantillonnés. Parmi les anophèles vecteurs, il y avait 1486 spécimens d'*An. gambiae* et 2 spécimens de *An. funestus* (Tableau X).

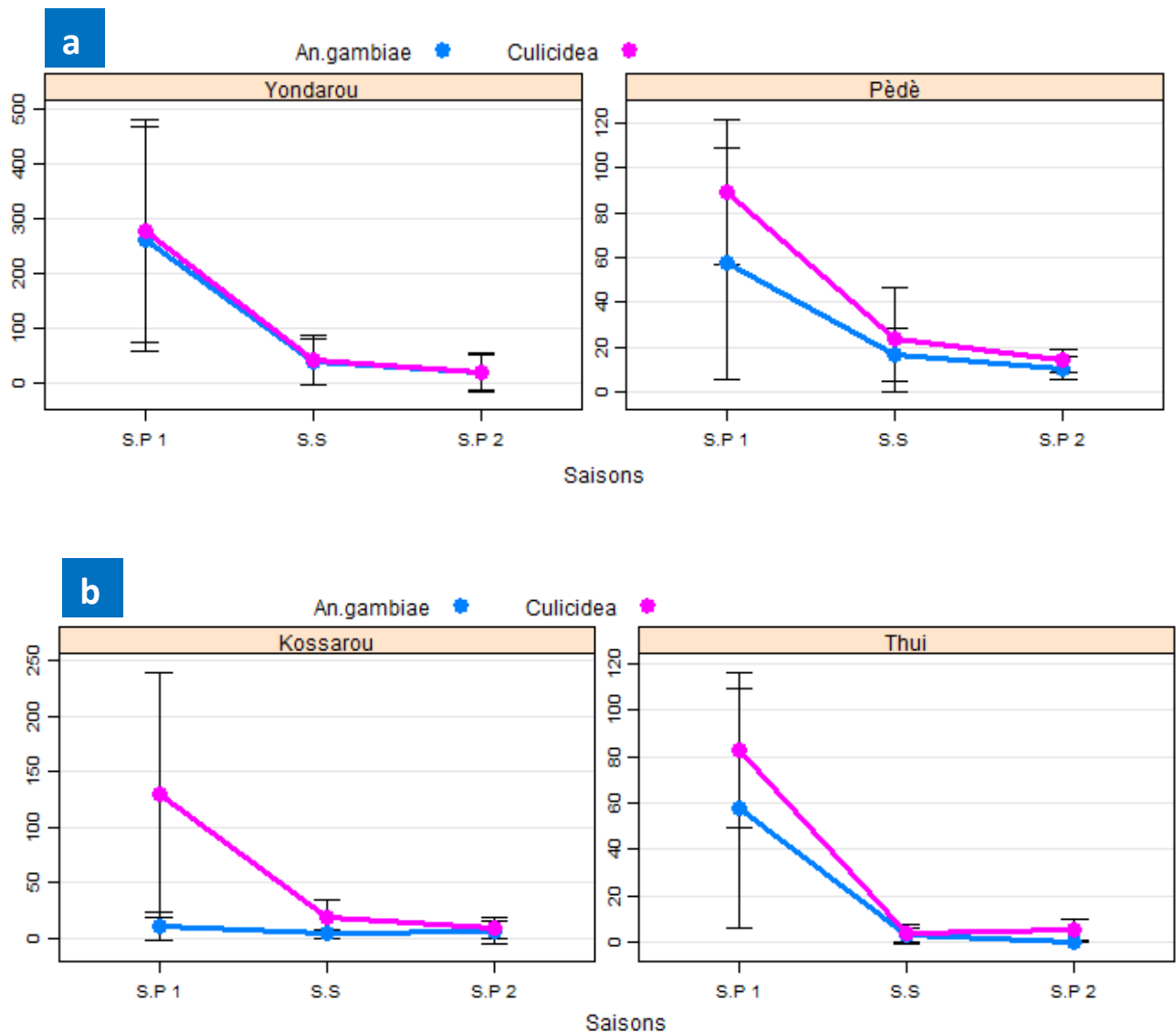
Lorsque nous considérons les deux secteurs S+ et S++, le secteur S+ a été plus prolifique en moustiques que le secteur S++. Un total de 1439 moustiques toute espèce confondue a été échantillonné dans le secteur S+, ce qui représente 65,11% de la collecte contre 771 dans le secteur S++ (34,89%). Le fossé entre les deux secteurs se justifie probablement par les caractéristiques écologiques en présence et plus précisément la présence de cours d'eau permanent dans les deux localités du secteur S+. Par ailleurs, il est important de souligner que *An. gambiae* a été de loin l'espèce de moustique la plus rencontrée dans le secteur S+ (86,17%) alors que dans le secteur S++, c'est *Culex quiquefasciatus* qui a été l'espèce majoritaire, représentant 63,04% du nombre total de moustiques collectés (Tableau X).

## 3. Densité vectorielle et dynamique des populations

La densité de moustiques collectés au cours des différentes missions n'a pas été la même dans les deux secteurs. Elle a varié en fonction des localités et des périodes de l'année. Pour la densité vectorielle, nous avons considéré uniquement *An. gambiae* car nous avons capturé très peu de *An. funestus* au cours de notre étude. De façon générale, les plus fortes densités de moustiques (vecteurs et non-vecteurs) ont été obtenues pendant la saison pluvieuse de l'année 2012 (mai à septembre) (Figure 22). A Sonsoro (S+) et à Kossarou (S++) où nous avons utilisé les mêmes méthodes d'échantillonnage, la plus forte densité de *An. gambiae* a été respectivement de 466 et 24 spécimens, soit 19,42 fois plus de vecteurs du paludisme dans le Secteur S+ que dans le Secteur S++. Dans tous les deux secteurs, l'échantillonnage de moustiques a été très peu prolifique entre novembre 2012 et mars 2013, c'est-à-dire pendant la saison sèche (Figure 22). Dans le secteur S+ (Sonsoro, Pèdè), la densité vectorielle observée en saison sèche a été nettement inférieure à celle de la première saison pluvieuse (Tableau XI). Mais dans le secteur S++, la situation n'était pas la même. A Thui, les

observations ont été identiques à celles des deux localités du secteur S+, mais à Kossarou par contre, le très faible nombre des spécimens de *An. gambiae* capturés au cours des missions successives n'a pas permis de noter une différence significative suivant les saisons de l'année ( $p = 0,48$ ) (Tableau XI).

Par ailleurs, la commune de Kandi a été particulièrement très peu arrosée pendant la saison pluvieuse de l'année 2013 (mai à septembre). Les densités de moustiques ont été très faibles dans les deux secteurs. De mai 2012 à septembre 2013 (deuxième saison pluvieuse), le nombre de *An. gambiae* collecté par mission est resté statistiquement semblable à la récolte effectuée pendant la saison sèche dans le secteur S+ et à Thui (une localité de S++). A Sorsoro, le plus grand nombre de *An. gambiae* pendant cette saison pluvieuse est de 52 spécimens, soit 8,96 fois moins que pendant la première saison pluvieuse (celle de mai à septembre 2012). La situation a été similaire à Pèdè et à Thui où tout s'est passé comme si la saison sèche de la période novembre 2012 à mars 2013 s'est poursuivie entre mai et septembre 2013 (Figure 24b).



**Figure 22:** Tendence des densités moyennes de *An. gambiae* et de l'ensemble des moustiques capturés suivant les saisons entre mai 2012 et septembre 2013 dans le secteur S+ (a) et dans le secteur S++ (b)

SP1 = Première saison pluvieuse (de mai 2012 à septembre 2012) ;

SS= Saison sèche (de novembre 2012 à mars 2013) ;

SP2 = Deuxième saison pluvieuse (de mai 2013 à septembre 2013).

**Tableau X:** Espèces de moustiques collectées dans les sites d'étude de mai 2012 à septembre 2013

| Méthodes<br>d'échantillonnage | Secteur S+           |         | Secteur S++          |         | Total |
|-------------------------------|----------------------|---------|----------------------|---------|-------|
|                               | Sonsoro              | Pèdè    | Kossarou             | Thui    |       |
|                               | CNAH<br>+<br>PF + Sp | PF + Sp | CNAH<br>+<br>PF + Sp | PF + Sp |       |
| <i>Anopheles gambiae</i>      | 972                  | 268     | 61                   | 185     | 1486  |
| <i>Anopheles funestus</i>     | 1                    | 0       | 1                    | 0       | 2     |
| <i>Anopheles pharoensis</i>   | 1                    | 0       | 1                    | 0       | 2     |
| <i>Anopheles broheri</i>      | 0                    | 1       | 0                    | 2       | 3     |
| <i>Anopheles coustani</i>     | 2                    | 0       | 0                    | 0       | 2     |
| <i>Aedes aegypti</i>          | 13                   | 1       | 4                    | 1       | 19    |
| <i>Aedes vittatus</i>         | 4                    | 0       | 0                    | 1       | 5     |
| <i>Culex quinquefasciatus</i> | 24                   | 117     | 409                  | 77      | 627   |
| <i>Culex gr decens</i>        | 4                    | 10      | 4                    | 3       | 21    |
| <i>Culex nebulosus</i>        | 2                    | 4       | 7                    | 6       | 19    |
| <i>Culex tigripes</i>         | 3                    | 0       | 1                    | 2       | 6     |
| <i>Culex annulioris</i>       | 1                    | 1       | 0                    | 0       | 2     |
| <i>Culex thalassius</i>       | 6                    | 2       | 4                    | 2       | 10    |
| <i>Mansonia africana</i>      | 1                    | 0       | 0                    | 0       | 1     |
| <i>Mansonia uniformis</i>     | 2                    | 0       | 0                    | 0       | 2     |
| TOTAL                         | 1035                 | 404     | 492                  | 279     | 2210  |

CNAH : capture de nuit sur appât humain

PF : piège fenêtre

Sp : capture par aspersion de bombe insecticide à effet rémanent

**Tableau XI:** Variation des densités moyennes de *An. gambiae* en fonction des saisons et leur significativité entre mai 2012 et septembre 2013

| Secteur     | Villages | Saisons | N   | Moyenne*           | CI-95%          | P       | Pr (>F) |
|-------------|----------|---------|-----|--------------------|-----------------|---------|---------|
| Secteur S+  | Sonsoro  | SP1     | 786 | 262.0 <sup>a</sup> | [118.0, 466.0]  | 0.0030  | 0.03714 |
|             |          | SS      | 151 | 37.75 <sup>b</sup> | [-430.8,-88.0]  | 0.0239  |         |
|             |          | SP2     | 55  | 18.33 <sup>b</sup> | [-454.4,-103.3] | 0.0223  |         |
|             | Pèdè     | SP1     | 172 | 57.33 <sup>a</sup> | [28.00, 110.0]  | 0.00628 | 0.03492 |
|             |          | SS      | 65  | 16.25 <sup>b</sup> | [-99.67,-07.50] | 0.04545 |         |
|             |          | SP2     | 31  | 10.33 <sup>b</sup> | [-102.0,-16.14] | 0.04079 |         |
| Secteur S++ | Thui     | SP1     | 173 | 57.67 <sup>a</sup> | [29,00-110,0]   | 0.0045  | 0.03599 |
|             |          | SS      | 12  | 03.00 <sup>b</sup> | [-108.5,-26.14] | 0.02179 |         |
|             |          | SP2     | 0   | 00.00 <sup>b</sup> | [-110.0,-29,00] | 0.02304 |         |
|             | Kossarou | SP1     | 33  | 11.00 <sup>a</sup> | [04.00, 24.00]  | 0.04819 | 0.4838  |
|             |          | SS      | 14  | 03.50 <sup>a</sup> | [-22.97, 01.00] | 0.25786 |         |
|             |          | SP2     | 15  | 05.00 <sup>a</sup> | [-24.00, 05.50] | 0.38737 |         |

N = nombre de spécimens de *An. gambiae* collectés

\* l'agressivité moyenne de la saison a été calculée en faisant le rapport du nombre total de spécimens de *An. gambiae* collectés et le nombre de mission de collectes effectuées au cours de la saison

IC-95% = intervalle de confiance au niveau de confiance de 95%

Pr (>F) = p-value du test de Fisher de l'analyse de la variance,

p = p-value du test de Student sur les coefficients estimés.

SP1 = Première saison pluvieuse (de mai 2012 à septembre 2012) ;

SS= Saison sèche (de novembre 2012 à mars 2013) ;

SP2 = Deuxième saison pluvieuse (de mai 2013 à septembre 2013).

#### 4. Taux de piqure des anophèles et fluctuation saisonnière

Pour l'évaluation de l'agressivité des populations d'anophèles sur homme, nous avons utilisé comme technique d'échantillonnage des moustiques, la capture sur appâts humains à Sonsoro, localité du Secteur S+, et à Kossarou, localité du Secteur S++. Les captures par pièges-fenêtres et par aspersion de bombes aérosols à l'intérieur des maisons ont été effectuées dans les quatre localités S+ et S++ en supposant que les spécimens d'*An. gambiae* retrouvés gorgés, semi-gravides et gravides ont pris leur repas sanguin sur l'hôte humain pendant la nuit ayant précédé leur capture.

Les données de l'agressivité moyenne ont montré une fluctuation saisonnière et une variation spatiale. A Sonsoro dans le secteur S+, la densité agressive moyenne sur homme estimée à partir du nombre de piqures par homme et par nuit (PHN) a été de 25,75 pour la première saison pluvieuse (de mai à septembre 2012). A Kossarou dans le secteur S++, le PHN a été estimé seulement à 1,25 pour la même période, soit 20,6 fois moins comparativement au secteur S+ où la même méthode d'échantillonnage a été utilisée (Sonsoro) (Tableau XII). Pendant la saison sèche (novembre 2012 à mars 2013), l'agressivité des moustiques a considérablement diminué dans les deux secteurs (Tableau XII) : 0,31 et 0,28 PHN respectivement à Sonsoro (secteur S+) et à Kossarou (secteur S++). En passant de la saison pluvieuse à la saison sèche, on note une diminution drastique de l'agressivité moyenne des anophèles : 82 % de réduction dans le secteur S+ et 78 % dans le secteur S++. Bien qu'il y ait une baisse du contact homme-vecteur dans les deux secteurs, l'agressivité moyenne à Sonsoro (secteur S+) reste supérieure à celle qui a été observée à Kossarou (secteur S++) ( $p < 0,001$ ). Par ailleurs, avec les très faibles hauteurs de pluies enregistrées pendant la saison pluvieuse de l'année 2013 (mai à septembre 2013), les valeurs de l'agressivité moyenne ont peu évolué. Elles ont été similaires à celles de la saison sèche dans le secteur S++ (à Kossarou) alors que dans le secteur S+ (Sonsoro), le PHN a significativement augmenté par rapport à la saison sèche (Tableau XII). Les agressivités moyennes ont été évaluées à 2,17 et 0,63 PHN respectivement dans les secteurs S+ et S++, soit très nettement en deçà des valeurs de la saison pluvieuse de l'année 2012.

Les estimations de l'agressivité moyenne à Pèdè dans le secteur S+ et à Thui dans le secteur S++ à partir des moustiques récoltés après aspersion de bombe aérosol à l'intérieur des maisons et au piège-fenêtre ont montré la même tendance que les captures sur appâts humains. Dans le secteur S+, le contact homme-vecteur a été évalué à 3,81 PHN pendant la saison pluvieuse de 2012 (mai à septembre 2012) contre 1,90 PHN dans le secteur S++

(Tableau XIII). Pendant la saison sèche, la baisse de la densité agressive des femelles d'*An. gambiae* est respectivement de 41,47% et 79,47% dans les secteurs S+ et S++. La saison pluvieuse qui a suivi n'a pas été une période de forte densité anophélienne.

De façon générale, les localités du secteur S+ ont été de loin celles ayant révélé les plus fortes agressivités de *An. gambiae*, indépendamment de la non uniformité des méthodes d'échantillonnage utilisées. Ainsi, à Sonsoro et à Pèdè, le nombre de piqûres d'anophèles par homme et par nuit a été plus élevé qu'à Kossarou et Thui.

**Tableau XII :** Densité agressives moyennes des femelles d'*An. gambiae* à Sonsoro (secteur S+) et à Kossarou (secteur S++) entre mai 2012 et septembre 2013

|             |          | Saison pluvieuse |    |        |               | Saison sèche |    |       |             | Saison pluvieuse |    |       |             |
|-------------|----------|------------------|----|--------|---------------|--------------|----|-------|-------------|------------------|----|-------|-------------|
|             | Villages | Total            | N  | P/H/N  | IC-95%        | Total        | N  | P/H/N | IC-95%      | Total            | N  | P/H/N | IC-95%      |
| Secteur S+  | Sonsoro  | 618              | 24 | 25,75a | [23,78-27,84] | 10           | 32 | 0,31b | [0,16-0,55] | 52               | 24 | 2,17c | [1,64-2,82] |
| Secteur S++ | Kossarou | 30               | 24 | 1,25a  | [00,86-01,76] | 9            | 32 | 0,28b | [0,14-0,51] | 15               | 24 | 0,63b | [0,37-1,00] |
|             | Total    | 648              | 48 | 13,50x | [12,49-14,57] | 19           | 64 | 0,30y | [0,18-0,45] | 67               | 48 | 1,40z | [1,09-1,76] |

**Tableau XIII :** Estimation de la densité agressive moyenne d'*An. gambiae* après capture par piège-fenêtre suivie d'aspersion intra-domiciliaire de bombe aérosol à Pèdè (secteur S+) et à Thui (secteur S++) entre mai 2012 et septembre 2013

|             |          | Saison pluvieuse |       |                   |             | Saison sèche |                   |             | Saison pluvieuse |                   |             |
|-------------|----------|------------------|-------|-------------------|-------------|--------------|-------------------|-------------|------------------|-------------------|-------------|
|             | Villages | N hbt            | Total | P/H/N             | IC-95%      | Total        | P/H/N             | IC-95%      | Total            | P/H/N             | IC-95%      |
| Secteur S+  | Pèdè     | 16               | 61    | 3,81 <sup>a</sup> | [2,94-4,86] | 38           | 2,23 <sup>b</sup> | [1,71-3,22] | 25               | 1,56 <sup>b</sup> | [1,04-2,27] |
| Secteur S++ | Thui     | 31               | 59    | 1,90 <sup>a</sup> | [1,46-2,44] | 12           | 0,39 <sup>b</sup> | [0,21-0,66] | 0                | 0,00 <sup>c</sup> | [0,00-0,08] |
|             | Total    | 47               | 120   | 2,55 <sup>x</sup> | [2,13-3,04] | 50           | 1,06 <sup>y</sup> | [0,8-1,39]  | 25               | 0,53 <sup>z</sup> | [0,35-0,77] |

N = Nombre de captureurs x Nuits de capture

N hbt = Nombre de personnes vivant dans les habitations considérées

Total = Nombre de spécimens d'*An. gambiae* récoltés au cours d'une période donnée

## 5. Taux de gorgement et infectivité d'*An. gambiae*

### 5.1 Taux de gorgement

L'évolution du taux de gorgement de *An. gambiae* suivant les saisons a été recherchée sur un total de 754 spécimens dont 530 échantillonnés pendant la saison pluvieuse et 224 pendant la saison sèche. De façon générale, les taux de gorgement en saison sèche et en saison pluvieuse ont été similaires dans le secteur S+ (Tableau XIV) alors que dans le secteur S++, le taux de gorgement a été nettement plus élevé pendant la sécheresse. Dans le secteur S+ (Sonsoro et Pèdè), le taux de gorgement a varié entre 42,36% et 65,56% alors que dans le secteur S++ (Kossarou et Thui) il est compris entre 34,10% et 100%. Mais en prenant un à un les localités du secteur S+, des particularités existent. Ainsi, à Sonsoro et à Pèdè, on remarque que les taux de gorgement ont été significativement plus élevés pendant la saison sèche. Le même constat a été fait à Thui dans le secteur S++. Ces différents résultats suggèrent donc que le taux de gorgement est significativement plus important pendant les mois de la saison sèche, certainement à cause des faibles effectifs d'*An. gambiae* au cours de cette période. En effet, il en résulte qu'en présence d'une forte densité anophélienne, tous les moustiques qui entrent dans les maisons ne réussissent pas à prendre leur repas sanguin sur leur hôte ; à cette période, l'utilisation des moustiquaires est systématique et généralisée dans la population humaine. Mais lorsque la densité des anophèles est faible, l'utilisation quotidienne des moustiquaires n'est plus systématique et les moustiques ont un accès plus facile à l'hôte.

**Tableau XIV** : Taux de gorgement de *An. gambiae* capturé par piège-fenêtre et par aspersion intradomiciliaire de bombe aérosol dans les villages des secteurs S+ et S++ entre mai 2012 et septembre 2013

|             |          | Saison pluvieuse                         |           |                    | Saison sèche              |           |                     |
|-------------|----------|------------------------------------------|-----------|--------------------|---------------------------|-----------|---------------------|
|             |          | mai-septembre 2012 et mai-septembre 2013 |           |                    | novembre 2012 - mars 2013 |           |                     |
|             |          | Total                                    | N. gorgés | Tx gorg.           | Total                     | N. gorgés | Tx gorg.            |
| Secteur S+  | Sonsoro  | 151                                      | 99        | 65,56 <sup>a</sup> | 141                       | 75        | 53,19 <sup>b</sup>  |
|             | Pèdè     | 203                                      | 86        | 42,36 <sup>a</sup> | 65                        | 38        | 58,46 <sup>b</sup>  |
|             | Total    | 354                                      | 185       | 52,26 <sup>a</sup> | 206                       | 113       | 54,85 <sup>a</sup>  |
| Secteur S++ | Kossarou | 3                                        | 3         | 100,0 <sup>a</sup> | 6                         | 5         | 83,33 <sup>a</sup>  |
|             | Thui     | 173                                      | 59        | 34,10 <sup>a</sup> | 12                        | 12        | 100,00 <sup>b</sup> |
|             | Total    | 176                                      | 62        | 35,23 <sup>a</sup> | 18                        | 17        | 94,44 <sup>b</sup>  |
| Total       |          | 530                                      | 247       | 46,60 <sup>x</sup> | 224                       | 130       | 58,04 <sup>y</sup>  |

## 5.2 Infectivité de *An. gambiae* au *P. falciparum*

L'analyse des spécimens de *An. gambiae* à l'ELISA-CSP, a révélé 22 *An. gambiae* femelles positives pour l'antigène circumsporozoïtique pour un total de 595 femelles analysées, soit un indice moyen d'infection de 3,70%. Le tableau V ci-dessous présente le nombre de piqûres infectantes de *An. gambiae* reçues par homme et par nuit à Sonsorou, Pèdè, Kossarou et Thui. Le taux d'inoculation entomologique (TIE) a varié de 0 à 0,76 piqûre infectante par homme et par nuit dans l'ensemble des quatre localités d'étude. En projetant la borne supérieure sur l'ensemble de la période d'étude, un homme pourrait théoriquement recevoir 387,6 piqûres infectées entre mai 2012 et septembre 2013, c'est-à-dire en 17 mois. De façon générale, dans le secteur S+, les TIE sont nettement plus élevés (0,225 piqûre infectante par homme par nuit, soit théoriquement 82,1 piqûres infectantes par an) par rapport au secteur S++ où ce taux est réduit de 93,3% (0,015 piqûre infectante par nuit et 5,5 piqûres par an) (Tableau XV).

**Tableau XV:** Taux d'inoculation entomologique de *An. gambiae* capturé à Sonsorou, Pèdè, Kossarou et Thui entre mai 2012 et septembre 2013

|                |                   | Saison pluvieuse<br>(mai-12 à sept-13) | Saison sèche<br>(nov-12 à mars-13) | Saison pluvieuse<br>(mai-13 à sept-13) | Total             |
|----------------|-------------------|----------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|-------------------|
| Secteur<br>S+  | Effectif total    | 618                                    | 10                                 | 52                                     | 680               |
|                | Hom. N. de cap.   | 24                                     | 32                                 | 24                                     | 80                |
|                | PHN               | 25,75                                  | 0,31                               | 2,17                                   | 8,5               |
|                | N testé par Elisa | 237                                    | 10                                 | 55                                     | 302               |
|                | S (%)             | 2,95                                   | 6,25                               | 5,45                                   | 3,82              |
|                | TIE (pi/h/n)      | 0,76 <sup>a</sup>                      | 0,02 <sup>b</sup>                  | 0,12 <sup>b</sup>                      | 0,33 <sup>x</sup> |
|                | IC-95%            | [0,44 -1,19]                           | [0,00 -0,17]                       | [0,03 -0,37]                           | [0,20 -0,46]      |
|                | Effectif total    | 61                                     | 38                                 | 25                                     | 124               |
|                | Hom. N. de cap.   | 16                                     | 16                                 | 16                                     | 48                |
|                | PHN               | 3,81                                   | 2,23                               | 1,56                                   | 2,58              |
|                | N testé par Elisa | 48                                     | 38                                 | 25                                     | 111               |
|                | S (%)             | 4,17                                   | 5,26                               | 4,00                                   | 4,50              |
|                | TIE (pi/h/n)      | 0,16 <sup>a</sup>                      | 0,12 <sup>a</sup>                  | 0,06 <sup>a</sup>                      | 0,12 <sup>x</sup> |
|                | IC-95%            | [0,04 -0,55]                           | [0,02 -0,45]                       | [0,04 -0,35]                           | [0,05 -0,27]      |
| Secteur<br>S++ | Effectif total    | 30                                     | 9                                  | 15                                     | 54                |
|                | Hom. N. de cap.   | 24                                     | 32                                 | 24                                     | 80                |
|                | PHN               | 1,25                                   | 0,28                               | 0,63                                   | 0,68              |
|                | N testé par Elisa | 36                                     | 48                                 | 15                                     | 99                |
|                | S (%)             | 2,78                                   | 4,17                               | 0,00                                   | 3,57              |
|                | TIE (pi/h/n)      | 0,03 <sup>a</sup>                      | 0,01 <sup>a</sup>                  | 0,00 <sup>a</sup>                      | 0,02 <sup>y</sup> |
|                | IC-95%            | [0,00 -0,23]                           | [0,00 -0,55]                       | [0,04 -0,09]                           | [0,00 -0,09]      |
|                | Effectif total    | 59                                     | 12                                 | 0                                      | 71                |
|                | Hom. N. de cap.   | 31                                     | 31                                 | 31                                     | 93                |
|                | PHN               | 1,9                                    | 0,39                               | 0                                      | 0,76              |
|                | N testé par Elisa | 48                                     | 12                                 | 0                                      | 60                |
|                | S (%)             | 2,08                                   | 0,00                               | -                                      | 1,67              |
|                | TIE (pi/h/n)      | 0,04 <sup>a</sup>                      | 0,00 <sup>a</sup>                  | -                                      | 0,01 <sup>y</sup> |
|                | IC-95%            | [0,00 -0,18]                           | [0,00 -0,19]                       | -                                      | [0,03 -0,06]      |

## **6. Résultats de la caractérisation moléculaire de *An. gambiae* s.l. et fluctuations saisonnières des différentes formes moléculaires**

Les analyses PCR réalisées sur 600 spécimens d'*An. gambiae* s.l. ont révélé que 100% étaient des *An. gambiae* s.s. Les deux formes moléculaires M et S ont été retrouvées dans les deux secteurs, mais aussi la forme hybride M/S. Sur toute la période d'étude, la forme M a été majoritairement retrouvée avec 353 spécimens, ce qui représente 58,83% du nombre total de moustiques testés. Concernant la fluctuation saisonnière des différentes formes moléculaires, la tendance est à une diminution de la fréquence des spécimens d'*An. gambiae* de forme S pendant la saison sèche (Tableau XVI). Dans le secteur S+, la fréquence de la forme S est passée de 46,62% pendant la saison pluvieuse à 29,17% pendant la saison sèche, soit une réduction moyenne de 47,43%. Dans le secteur S++ par contre la fréquence de S a varié de 33,98% à 29,63% entre les deux saisons, soit une diminution de 12,80%. En ce qui concerne les données de chaque localité, la réduction du pourcentage de la forme S n'a pas été la même partout. Cependant, après le retour des pluies (mai 2013 à septembre 2013), la fréquence de la forme S a significativement augmenté dans toutes les localités.

## **7. Caractérisation des mutations *Kdr* L1014F et *Ace-1* et variations saisonnières**

### **7.1 Mutation *Kdr* L1014F**

Un total de 571 *An. gambiae* ont été analysés à la PCR et les résultats ont montré que la mutation *kdr* L1014F est le principal mécanisme de résistance mis en évidence à Sonsoro, Pèdè, Kossorou, et Thui. De façon générale, les trois génotypes RR, RS et SS sont représentés mais les individus homozygotes sensibles (SS) représentent seulement 2,28% de l'échantillon analysé (Tableau XVII). Inversement, les individus homozygotes résistants (RR) sont les plus rencontrés : 75,83% (n = 433) des moustiques testés.

On note une homogénéité entre les résultats à l'intérieur de chacun des deux secteurs S+ et S++. Dans les villages du secteur S+, on observe une augmentation significative de la fréquence allélique pendant la saison sèche, ce qui n'a pas été le cas dans le secteur S++. Cependant il est important de souligner que dans les deux secteurs, aucun spécimen homozygote SS n'a été retrouvé pendant les captures de la saison sèche. Cela est probablement dû à la pression insecticide exercée sur les larves de *An. gambiae* lors de

l'utilisation des insecticides contre les ravageurs de coton, un produit d'exportation très cultivée à Kandi.

D'une façon générale, les fréquences alléliques enregistrées ont été très élevées, variant de 78% à 95%, ce qui démontre assez facilement que le gène Kdr est très répandu dans les populations anophéliennes de Sonsoro, Pèdè, Kossarou et Thui.

### **7.2.Mutation *ace-1***

La mutation des cibles de l'acétylcholinestérase a été recherchée sur 600 spécimens de *An. gambiae* provenant de Sonsoro, Pèdè, Kossarou, et Thui. Tous les individus analysés sont de génotypes homozygotes sensibles SS (Tableau XVIII). La mutation *ace-1* n'a donc pas été mise en évidence dans les échantillons testés.

**Tableau XVI** : Résultats de la caractérisation moléculaire de *An. gambiae* s.s. et fluctuations saisonnières des différentes formes moléculaires entre mai 2012 et septembre 2013

| Nature      | Villages | Forme moléculaires | Saison pluvieuse (mai-13 à sept-13) |                    | Saison sèche (nov-12 à mars-13) |                    | Saison pluvieuse (mai-13 à sept-13) |                     |
|-------------|----------|--------------------|-------------------------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------|-------------------------------------|---------------------|
|             |          |                    | N                                   | %                  | N                               | %                  | N                                   | %                   |
| Secteur S+  | Sonsoror | M                  | 107                                 | 55,44 <sup>a</sup> | 56                              | 82,35 <sup>b</sup> | 18                                  | 66,67 <sup>a</sup>  |
|             |          | M/S                | 5                                   | 2,59 <sup>a</sup>  | 01                              | 1,47 <sup>a</sup>  | 0                                   | 0,00 <sup>a</sup>   |
|             |          | S                  | 81                                  | 41,97 <sup>a</sup> | 11                              | 16,18 <sup>b</sup> | 9                                   | 33,33 <sup>ab</sup> |
|             |          | Total              | 193                                 | 100,00             | 68                              | 100,00             | 27                                  | 100,00              |
|             | Pèdè     | M                  | 37                                  | 42,05 <sup>a</sup> | 28                              | 53,85 <sup>a</sup> | 17                                  | 56,67 <sup>a</sup>  |
|             |          | M/S                | 1                                   | 1,14 <sup>a</sup>  | 00                              | 0,00 <sup>a</sup>  | 00                                  | 0,00 <sup>a</sup>   |
|             |          | S                  | 50                                  | 56,82 <sup>a</sup> | 24                              | 46,15 <sup>a</sup> | 13                                  | 43,33 <sup>a</sup>  |
|             |          | Total              | 88                                  | 100,00             | 52                              | 100,00             | 30                                  | 100,00              |
|             | Total    | M                  | 144                                 | 51,25 <sup>b</sup> | 84                              | 70,00 <sup>a</sup> | 35                                  | 61,40 <sup>ab</sup> |
|             |          | M/S                | 006                                 | 2,14 <sup>a</sup>  | 01                              | 0,83 <sup>a</sup>  | 00                                  | 0,00 <sup>a</sup>   |
|             |          | S                  | 131                                 | 46,62 <sup>a</sup> | 35                              | 29,17 <sup>b</sup> | 22                                  | 38,60 <sup>ab</sup> |
|             |          | Total              | 281                                 | 100,00             | 120                             | 100,00             | 57                                  | 100,00              |
| Secteur S++ | Kossarou | M                  | 14                                  | 53,85 <sup>b</sup> | 12                              | 92,31 <sup>a</sup> | 3                                   | 25,00 <sup>b</sup>  |
|             |          | M/S                | 00                                  | 0,00 <sup>a</sup>  | 00                              | 0,00 <sup>a</sup>  | 0                                   | 00,00 <sup>a</sup>  |
|             |          | S                  | 12                                  | 46,15 <sup>a</sup> | 01                              | 7,69 <sup>b</sup>  | 9                                   | 75,00 <sup>a</sup>  |
|             |          | Total              | 26                                  | 100,00             | 13                              | 100,00             | 12                                  | 100,00              |
|             | Thui     | M                  | 54                                  | 70,13 <sup>a</sup> | 7                               | 50,00 <sup>a</sup> | 0                                   |                     |
|             |          | M/S                | 0                                   | 0,00 <sup>a</sup>  | 0                               | 0,00 <sup>a</sup>  | 0                                   |                     |
|             |          | S                  | 23                                  | 29,87 <sup>a</sup> | 7                               | 50,00 <sup>a</sup> | 0                                   |                     |
|             |          | Total              | 77                                  | 100,00             | 14                              | 100,00             | 0                                   |                     |
|             | Total    | M                  | 68                                  | 66,02 <sup>a</sup> | 19                              | 70,37 <sup>a</sup> | 3                                   | 25,00 <sup>b</sup>  |
|             |          | M/S                | 00                                  | 0,00 <sup>a</sup>  | 00                              | 0,00 <sup>a</sup>  | 0                                   | 0,00 <sup>a</sup>   |
|             |          | S                  | 35                                  | 33,98 <sup>b</sup> | 08                              | 29,63 <sup>b</sup> | 9                                   | 75,00 <sup>a</sup>  |
|             |          | Total              | 103                                 | 100,00             | 27                              | 100,00             | 12                                  | 100,00              |

**Tableau XVII** : Résultats de la fréquence allélique concernant la mutation *Kdr* L1014F chez *An. gambiae* capturés à Sonsoro, Pèdè, Kossarou et Thui entre mai 2012 et septembre 2013

| Nature      | Villages | Mutation<br><i>Kdr</i> L1014F | Saison pluvieuse<br>(mai-13 à sept-13) | Saison sèche<br>(nov-12 à mars-13) | Saison pluvieuse<br>(mai-13 à sept-13) |
|-------------|----------|-------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|
| Secteur S+  | Sonsoro  | RR                            | 127                                    | 61                                 | 17                                     |
|             |          | RS                            | 45                                     | 7                                  | 7                                      |
|             |          | SS                            | 4                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                          | 0,85 <sup>a</sup>                      | 0,95 <sup>b</sup>                  | 0,85 <sup>a</sup>                      |
|             | Pèdè     | RR                            | 56                                     | 41                                 | 24                                     |
|             |          | RS                            | 27                                     | 10                                 | 6                                      |
|             |          | SS                            | 6                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                          | 0,78 <sup>a</sup>                      | 0,90 <sup>b</sup>                  | 0,90 <sup>b</sup>                      |
|             | Total    | RR                            | 183                                    | 102                                | 41                                     |
|             |          | RS                            | 72                                     | 17                                 | 13                                     |
|             |          | SS                            | 10                                     | 00                                 | 00                                     |
|             |          | F(R)                          | 0,83 <sup>a</sup>                      | 0,93 <sup>b</sup>                  | 0,88 <sup>ab</sup>                     |
| Secteur S++ | Kossarou | RR                            | 22                                     | 11                                 | 7                                      |
|             |          | RS                            | 4                                      | 2                                  | 4                                      |
|             |          | SS                            | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                          | 0,92 <sup>a</sup>                      | 0,92 <sup>a</sup>                  | 0,82 <sup>a</sup>                      |
|             | Thui     | RR                            | 61                                     | 6                                  | 0                                      |
|             |          | RS                            | 12                                     | 1                                  | 0                                      |
|             |          | SS                            | 03                                     | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                          | 0,88 <sup>a</sup>                      | 0,93 <sup>a</sup>                  | -                                      |
|             | Total    | RR                            | 83                                     | 17                                 | 7                                      |
|             |          | RS                            | 16                                     | 3                                  | 4                                      |
|             |          | SS                            | 3                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                          | 0,89 <sup>a</sup>                      | 0,93 <sup>a</sup>                  | 0,82 <sup>a</sup>                      |

**Tableau XVIII:** Résultats de la fréquence allélique concernant la mutation *ace-1* chez *An. gambiae* capturés à Sonsorou, Pèdè, Kossarou et Thui entre mai 2012 et septembre 2013

| Nature      | Villages | Mutation<br><i>Ace-1</i> | Saison pluvieuse<br>(mai-13 à sept-13) | Saison sèche<br>(nov-12 à mars-13) | Saison pluvieuse<br>(mai-13 à sept-13) |
|-------------|----------|--------------------------|----------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|
| Secteur S+  | Sonsorou | SS                       | 196                                    | 68                                 | 27                                     |
|             |          | SR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | RR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                     | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             | Pèdè     | SS                       | 91                                     | 52                                 | 30                                     |
|             |          | SR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | RR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                     | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             | Total    | SS                       | 287                                    | 120                                | 57                                     |
|             |          | SR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | RR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                     | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
| Secteur S++ | Kossarou | SS                       | 26                                     | 13                                 | 12                                     |
|             |          | SR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | RR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                     | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             | Thui     | SS                       | 78                                     | 7                                  | 0                                      |
|             |          | SR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | RR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                     | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             | Total    | SS                       | 104                                    | 20                                 | 12                                     |
|             |          | SR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | RR                       | 0                                      | 0                                  | 0                                      |
|             |          | F(R)                     | 0                                      | 0                                  | 0                                      |

## 8. Discussion

La dynamique des populations d'anophèles est une donnée essentielle dans l'évaluation du risque lié au paludisme. L'existence d'une saison sèche aussi longue que la saison pluvieuse, avec absence totale de précipitation, fait de la commune de Kandi le terrain idéal pour mettre en évidence la situation du paludisme pendant les sécheresses de longue durée.

Selon Charlwood *et al.* (2000), deux phénomènes indépendants, mais simultanés, ont lieu au cours des longues saisons sèches. Les anophèles adultes sont disséminés dans des refuges pour une diapause estivale (estivation) et migrent vers d'autres localités lorsque les conditions climatiques sont meilleures avec l'eau disponible, pour assurer leur survie et leur reproduction. Dans la présente thèse, l'accent a été mis sur la vie des anophèles en absence de gîte, donc en absence d'eau. Par ailleurs, l'une des insuffisances des recherches entomologiques du paludisme est le manque d'engouement pour de telles études étant donné qu'il n'est pas facile de capturer les anophèles pendant la saison sèche avec les méthodes d'échantillonnage disponibles. L'échantillonnage est difficile car il s'agit de moustiques en diapause dans des refuges et qui, au besoin, en sortent pour un repas sanguin. Dans son étude sur la capacité d'adaptation des anophèles en saison sèche aride dans la région de Niamey au Niger, Adamou (2006) avait, entre autres méthodes, utilisé la capture par aspirateur à moteur de type CDC pour l'exploration des abris extérieurs (enclos des animaux, terriers des rongeurs et trous d'arbres). Cependant très peu de spécimens d'anophèles vecteurs du paludisme avaient été échantillonnés par cette méthode. C'est pourquoi, nous nous sommes focalisés sur des méthodes standards à savoir les captures sur appâts humains, par pièges-fenêtres et par aspersion intradomiciliaire de bombes aérosols. Les captures de moustiques sur appâts humains quoiqu'étant peu éthiques, constituent la méthode de référence pour l'étude de la transmission du paludisme et l'échantillonnage des anophèles vecteurs (Mathenge *et al.*, 2005).

L'échantillonnage des moustiques n'a pas été fait suivant les mêmes méthodes au niveau des 4 sites d'études. Cela pourrait, à priori, être une limite du design de notre étude. C'est pourquoi nous avons utilisé les mêmes méthodes d'échantillonnage pour les deux secteurs S+ et S++, à savoir, la capture de nuit sur homme pour la détermination des paramètres entomologiques à Sonsoro dans le secteur S+ et Kossarou dans le secteur S++ puis la capture par fenêtre-piège et par aspersion intradomiciliaire matinal à Pèdè dans le secteur S+ et Thui dans le secteur S++.

Les différentes missions entomologiques réalisées dans les deux secteurs ont permis de récolter 15 espèces de *Culicidae* dont 5 sont du genre *Anopheles*, 6 du genre *Culex*, du genre 2 *Aedes* et 2 du genre *Mansonia*. Dans les communes du département de l'Atacora situées au nord-ouest du Bénin et non loin de la commune de Kandi, Aïkpon *et al.* (2013) avaient identifié pratiquement les mêmes espèces dans des proportions variées et avaient observé que *An. gambiae s.l.* était plus abondant en zone périphérique qu'en zone centrale. Ce dernier constat a été vérifié dans nos sites d'études car à Kossarou dans le secteur S++ situé au centre-ville de Kandi, c'est *Culex quinquefasciatus* qui a été majoritairement échantillonné (81,71%). On peut donc en déduire que l'urbanisation influence considérablement la diversité culicidienne et la densité des anophèles vecteurs du paludisme. Inversement, dans le secteur S+ et à Thui situé dans le secteur S++, tous situés en milieu rural, *An. gambiae* a été prépondérant. C'est la raison pour laquelle le risque de piqûre des anophèles et la transmission du paludisme sont plus faibles en milieu urbain comparativement au milieu rural (Hay *et al.*, 2005 ; Watts *et al.*, 1990 ; Gardiner *et al.*, 1984 ; Trape 1987).

Les densités agressives de femelles d'*An. gambiae* montrent que les piqûres d'anophèles sont plus fréquentes dans le secteur S+. Même pendant la sécheresse, les PHN enregistrées dans ce secteur sont nettement supérieures à celles du secteur S++ pendant la saison pluvieuse. La présence de cours d'eau permanent ou semi-permanent est le premier facteur de risque du paludisme. Pour Cox *et al.* (1999) et Kazembe *et al.* (2006), les facteurs environnementaux et écologiques influencent énormément la transmission du paludisme. L'agressivité anophélienne relativement élevée pendant la saison sèche dans le secteur S+ (Sonsororo et Pèdè) au cours de la sécheresse est liée au retrait des cours d'eau accompagné çà et là de petites poches d'eau favorables au développement de *An. gambiae*.

Les taux de gorgement élevés obtenus dans les deux secteurs malgré les longues saisons sèches montrent que, les anophèles, malgré leur refuge, ressortent pour prendre des repas de sang. Par ailleurs, ces taux élevés sont liés à la baisse de la densité anophélienne observée dans les deux secteurs à cette période de l'année. D'autre part, nous pouvons penser que, les anophèles à jeun résisteraient moins à l'aridité alors que les femelles gorgées et gravides sont riches en graisse qu'elles utilisent pour lutter contre la dessiccation, d'où une fréquence très faible des femelles à jeun dans nos échantillons pendant la saison sèche. Par ailleurs, avec l'aridité de la saison sèche, les gîtes de *An. gambiae* sont rares, ce qui contribue à limiter l'existence de jeunes moustiques. De plus, étant donné que les repas sanguins successifs

prolongent la longévité de *An. gambiae* (Govoetchan *et al.*, 2013), les moustiques gorgés et gravides, donc relativement âgés, sont favorisés pendant la saison sèche.

Pendant la saison sèche, les taux d'inoculation entomologiques (TIE) sont relativement élevés dans le secteur S+. Même si le TIE a été réduit de 93,3% à cette période dans le secteur S++, comparativement au secteur S+, le risque d'accès palustre demeure. Dans le secteur S++, le TIE moyen a été de 5,5 piqûres infectées par homme et par an. Selon les travaux de Trape (2001), la situation épidémiologique du paludisme est toujours préoccupante tant que l'exposition individuelle n'est pas réduite à moins de 2 piqûres d'anophèles infectés par personne par an dans une localité. C'est seulement si cet objectif est atteint qu'on note une diminution durable et significative du nombre d'accès de paludisme au sein de la population (Alles *et al.*, 1998 ; Robert & Trape, 1997 ; Trape & Rogier, 1996). Dans ces conditions, nos résultats suggèrent que le problème de la transmission du paludisme reste entier, même pendant les saisons sèches de longue durée, comme c'est le cas dans la commune de Kandi. Pendant ces périodes, l'absence prolongée de gîtes d'anophèles et la très forte aridité qui est une menace potentielle à la survie des moustiques, pourraient laisser imaginer la situation contraire, c'est-à-dire une accalmie et une transmission en dessous du « seuil de Trape ». Mais, les habitudes des populations locales qui consistent à abandonner les mesures de protection comme les moustiquaires imprégnées à cette période apparaissent comme un facteur de risque.

L'étude du complexe *An. gambiae* n'a pas permis d'identifier des spécimens de *An. arabiensis* dans les deux secteurs étudiés. Selon une étude réalisée au Bénin par Akogbéto *et al.* en 2010 (données non publiées), *An. arabiensis* est aujourd'hui caractérisé par une large distribution spatiale comparativement à son aire géographique limitée de 1983. *An. arabiensis* ayant une prédilection pour les zones de savane sèche, la destruction de la végétation en zone de forêt au sud du Bénin et au centre en zone de savane humide a été bénéfique à cette espèce et y a favorisé son développement. Ainsi, nous nous attendions à récolter des individus *An. arabiensis* dans nos deux secteurs, surtout quand on considère les caractéristiques écologiques et climatiques de la commune de Kandi. Mais nos résultats ont été différents, principalement en raison des méthodes d'échantillonnage que nous avons utilisées. En effet, *An. arabiensis* étant une espèce plus zoophile qu'anthropophile, il est évident qu'il soit très peu ou pas du tout échantillonnées par des captures sur appât humain, par piège-fenêtre ou par spray.

La caractérisation moléculaire de *An. gambiae* s.s a révélé la présence des deux formes moléculaires M et S dans les deux secteurs pendant les périodes de forte aridité avec une diminution de la fréquence des spécimens de forme S. Pendant la saison sèche, la fréquence de la forme M d'*An. gambiae* a été de 70 % dans le secteur S+ et dans le secteur S++. A cette période de l'année, nous espérions une fréquence plus élevée de la forme M, car les anophèles de cette forme résistent mieux aux conditions climatiques arides. Mais, la faible taille de notre échantillon pendant la saison sèche pourrait expliquer les résultats que nous avons obtenus. La mutation KdrL1014F a été mise en évidence et largement répandue dans les deux secteurs d'étude avec des fréquences alléliques sensiblement plus élevées en saison sèche. Le gène KdrL1014F étant originellement inféodé à la forme S de *An. gambiae* et compte tenu des fréquences élevées de KdrL1014F chez M, nous pouvons émettre l'hypothèse que l'introgession du gène KdrL1014F observée par Weill *et al.* (2000) chez quelques spécimens de la forme M de *An. gambiae* de zone forestière du Bénin est maintenant largement répandue au sein de cette forme moléculaire. Par ailleurs, les fortes fréquences alléliques enregistrées sont aussi probablement liées à la forte pression de sélections exercée par les pesticides abondamment utilisées pour la production agricole dans le nord du Bénin. La mutation *Ace-1* n'a pas été mise en évidence au cours de notre étude. Kandi, étant situé dans le nord du Bénin, une aire géographique où le coton est la principale denrée cultivée, nous nous attendions à mettre en évidence la mutation *Ace-1* au sein des spécimens d'anophèles vecteurs récoltés. En effet, le coton est une culture qui exige des traitements réguliers et d'importantes quantités d'insecticides y compris des organophosphorés et des carbamates car le trafic de pesticides n'est pas réglementé. Ainsi, avec nos résultats, nous ne pouvons pas conclure d'office à l'inexistence de la mutation *Ace-1* au sein de la population anophélienne de Kossarou, Pèdè, Sonsorou et Thui. Un échantillon plus grand aurait permis de vérifier la présence de spécimens porteurs du gène *Ace-1* et d'évaluer la fréquence allélique de cette mutation au sein des populations anophéliennes à Kandi.

## 9. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons exploré la dynamique de population des moustiques et étudié la transmission du paludisme pendant une saison sèche de longue durée. Il ressort de notre étude que, même si la densité des anophèles vecteurs connaît une baisse drastique pendant la sécheresse, la très forte aridité de la commune de Kandi n'est pas un frein à la transmission du

paludisme. Dans les localités du secteur S++ (villages très arides) où l'absence des gîtes larvaires de moustiques en général et d'anophèles en particulier a été remarquée pendant près de six mois, l'évaluation du risque entomologique du paludisme à travers la détermination des TIE a révélé une transmission au-dessus du « seuil de Trape ». Dans les conditions climatiques et écologiques similaires à celle de la commune de Kandi, les saisons sèches de longue durée ne seraient pas un frein à la transmission du paludisme. Il serait donc important de veiller à réduire le contact homme-vecteur particulièrement pendant les périodes de sécheresse où les populations locales ont tendance à ignorer les mesures de lutte antivectorielle. Par ailleurs, la mutation KdrL1014F est largement répandue au sein de la population anophélienne et une très forte fréquence allélique a été obtenue pendant la sécheresse, ce qui pourrait suggérer que le portage du gène Kdr serait un avantage à la survie pendant les conditions météorologiques redoutables qui sévissent dans certains écosystèmes arides.

## **Chapitre 6 :**

---

### **Données parasito-cliniques du paludisme en saison sèche**

## **1. Introduction**

Le recueil des informations sur la vulnérabilité des populations au paludisme et l'ampleur de la maladie repose avant tout sur les données de la morbidité et la mortalité. C'est pour cela que, en dehors de l'aspect entomologique, notre thèse a intégré les données parasito-cliniques du paludisme dans les deux secteurs S+ et S++ identifiés dans la commune de Kandi. Rappelons que le symbole + indique le degré d'aridité de la zone ; ce qui signifie donc que le secteur S++ est plus aride que S+. Dans le présent chapitre, nous avons mesuré l'ampleur des indicateurs parasitologiques et cliniques dans un contexte de saison sèche de longue durée où la transmission du paludisme est supposée être très faible voire nulle. Pour cela, nous avons, dans un premier temps, collecté des données rétrospectives concernant les cas cliniques de paludisme diagnostiqués pendant cinq années (2008 à 2012) dans les formations sanitaires publiques des deux secteurs étudiés. Pour le secteur S+, nous avons retenu le Centre de Santé d'Arrondissement (CSA) de Sonsoro alors que pour le secteur S++, c'est le Centre de Santé de Commune (CSC) de Gansosso qui a été choisi. Nous y avons comparé la situation du paludisme et recherché l'ampleur de la maladie surtout dans les saisons sèches de longue durée. Dans un second temps, nous avons aussi conduit une enquête parasitologique basée sur le diagnostic rapide du paludisme chez les enfants de moins de 10 ans dans le secteur S+ (Sonsoro) et dans le secteur S++ (Gansosso) pendant une période de très forte aridité.

## **2. Résultats**

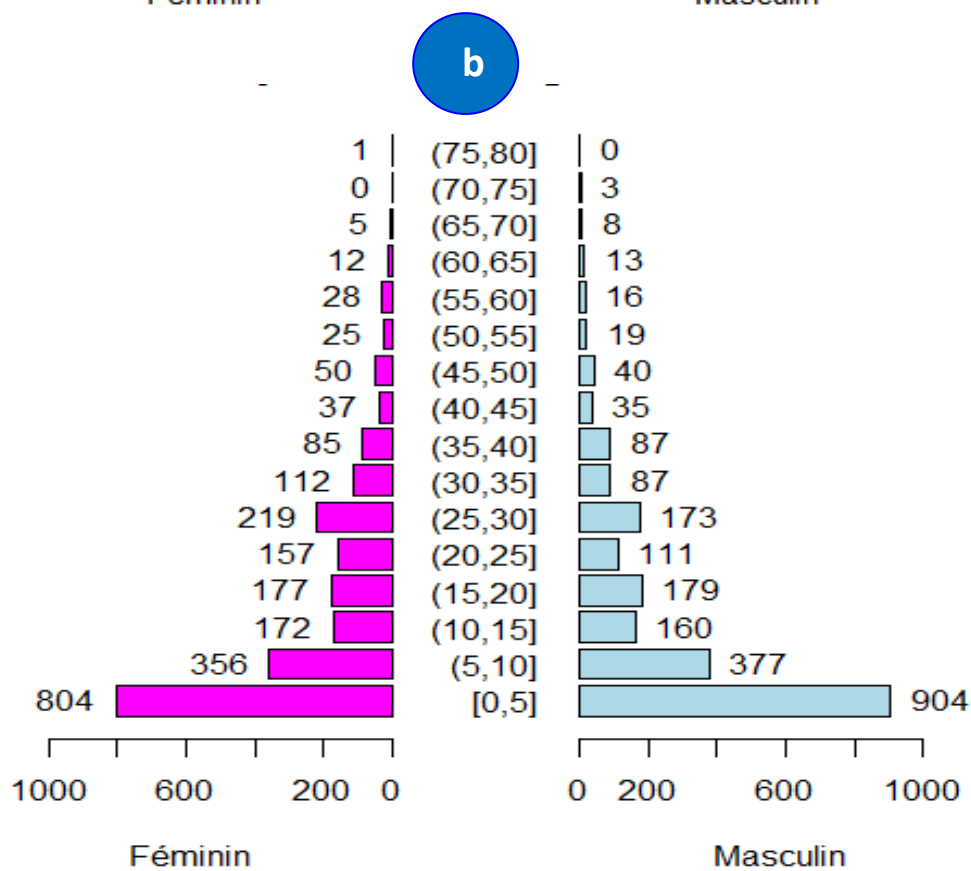
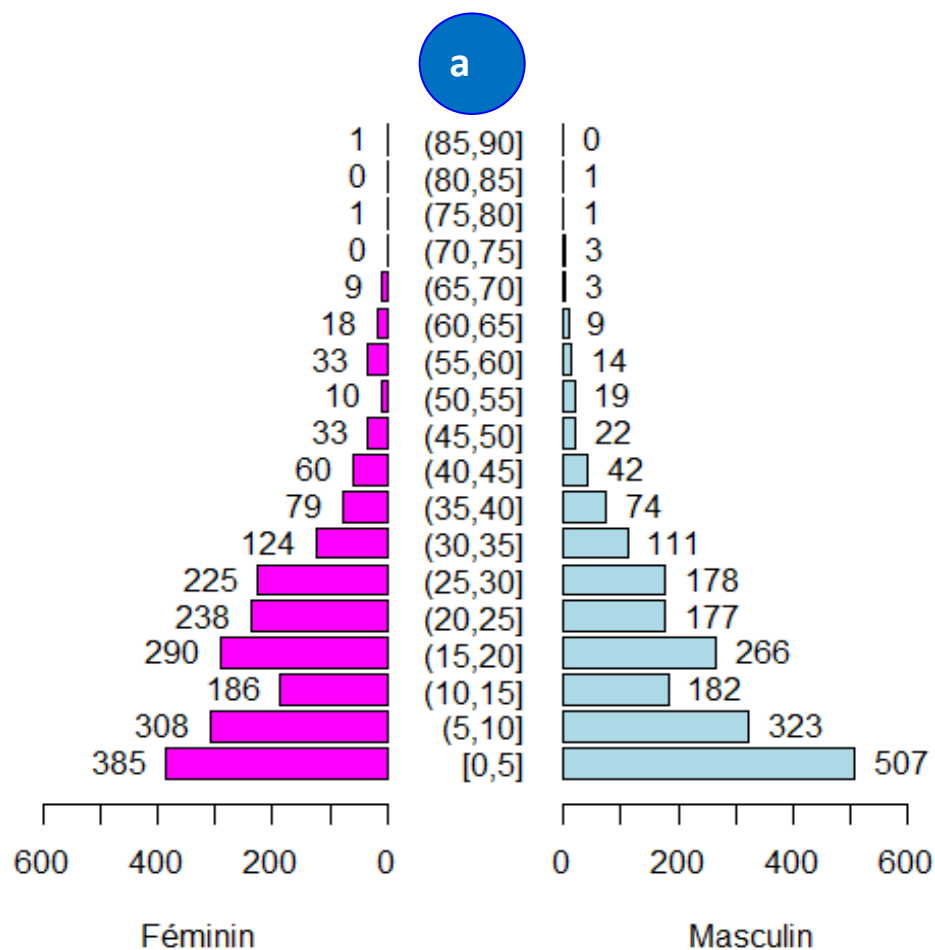
### **2.1. Données rétrospectives sur l'incidence du paludisme de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++**

Les registres de soins curatifs ayant servi à l'enregistrement des patients venus en consultation entre 2008 et 2012 dans le CSC de Gansosso situé dans le milieu urbain de Kandi et le CSA de Sonsoro situé en milieu périphérique ont été consultés. Nous avons recensé tous les cas de paludisme signalés dans ces deux formations sanitaires pour apprécier le niveau de la morbidité palustre entre 2008 et 2012.

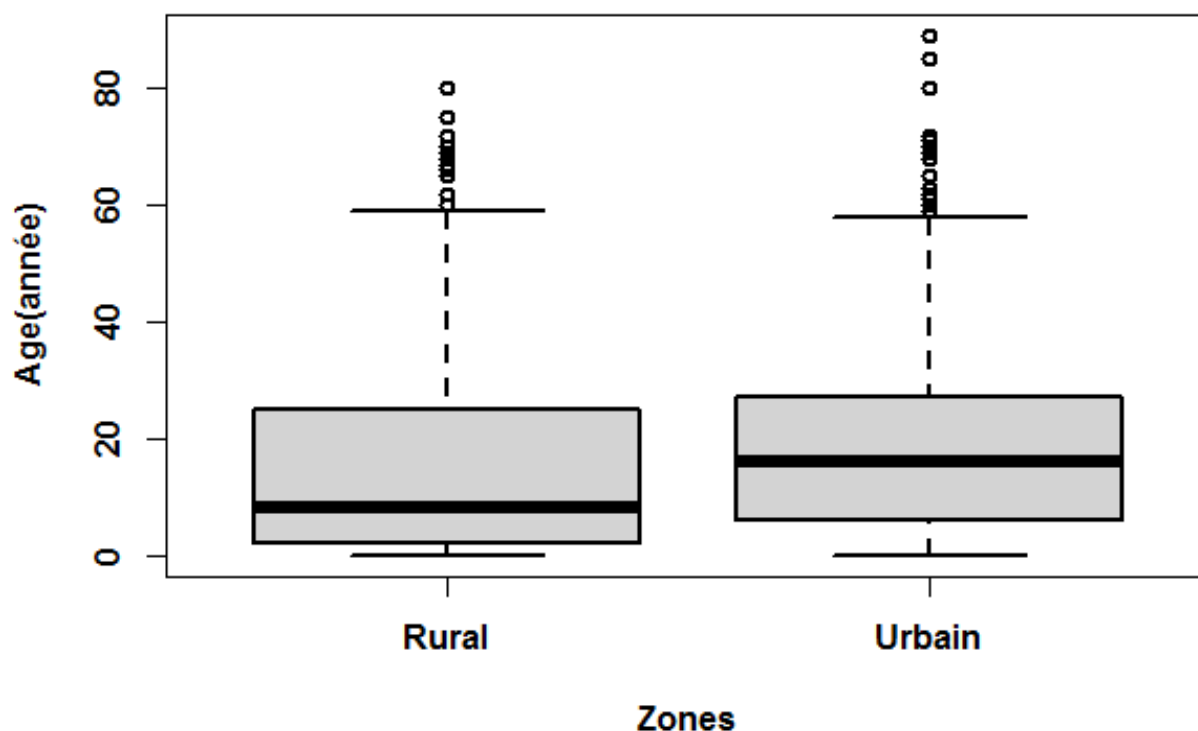
### 2.1.1 Statistique descriptive

Un total de 8388 cas de paludisme (simple ou grave) a été enregistré au CSC de Gansosso (secteur S++) et au CSA de Sorsoro (secteur S+) sur la période allant de 2008 à 2012 dont 53% (4456/8388) des cas à Sorsoro et 47% (3932/8388) à Gansosso. Ces cas de paludisme étaient diagnostiqués chez 4240 malades de sexe féminin, représentant 50,55% de l'effectif total, contre 4148 malades de sexe masculin (48,45%). La distribution des patients suivant les différentes classes d'âges semble homogène et ne diffère pas selon le secteur. Les enfants de moins de 5 ans sont les plus représentés avec respectivement 38% (1708/4456) et 23% (892/3932) du nombre total de malades enregistrés dans le secteur S+ (Sorsoro) et dans le secteur S++ de Kandi (Gansosso). Globalement, la fréquence des cas de paludisme décroît au fur et à mesure que l'on passe à une classe d'âge supérieure ; et cela s'observe aussi bien dans le secteur S++ (23a) que dans le secteur S+ (23b). Par ailleurs, il est important de souligner que l'effectif des patients dénombrés a été plus important dans le secteur S+ en raison du fait que les données relatives aux cas de paludisme observés chez les patients référés vers le CSC de Gansosso (secteur S++) ont été censurées pour ne considérer que les cas de paludisme signalés chez les personnes vivant effectivement dans ce secteur, et plus précisément dans la zone urbaine de Kandi. De plus, le CSA de Sorsoro est le seul centre de santé qui reçoit tous les patients de l'arrondissement. Or, Gansosso étant en milieu urbain, en dehors du centre de santé de commune où l'enquête a été réalisée, il existe d'autres formations sanitaires comme l'hôpital de zone de Kandi (centre de référence) et les formations privées.

Par ailleurs, il ressort que l'âge médian dans le secteur S+ (Sorsoro) est significativement supérieur à celui enregistré dans le secteur S++ (Kandi-centre). Il est respectivement de 8 ans et 16 ans à Sorsoro et à Gansosso ( $\chi^2 = 194.7157$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.0001$ ). Plus concrètement, cela signifie que la moitié des 4456 cas de paludisme enregistrés dans la formation sanitaire du secteur S+ a été signalée chez des patients ayant entre 0 et 8 ans et que dans le secteur S++ par contre, la moitié des 3932 cas de paludisme a été dénombrée chez des patients ayant entre 0 et 16 ans. Ce constat suggère globalement que la vulnérabilité des enfants vis-à-vis du paludisme est plus prononcée dans le secteur S+ comparativement au secteur S++ (Figure 24).



**Figure 23:** Pyramides des âges des patients chez qui les cas de paludisme ont été signalés à Gansosso dans le secteur S++ (a) et à Sonsoro dans le secteur S+ (b) de 2008 à 2012



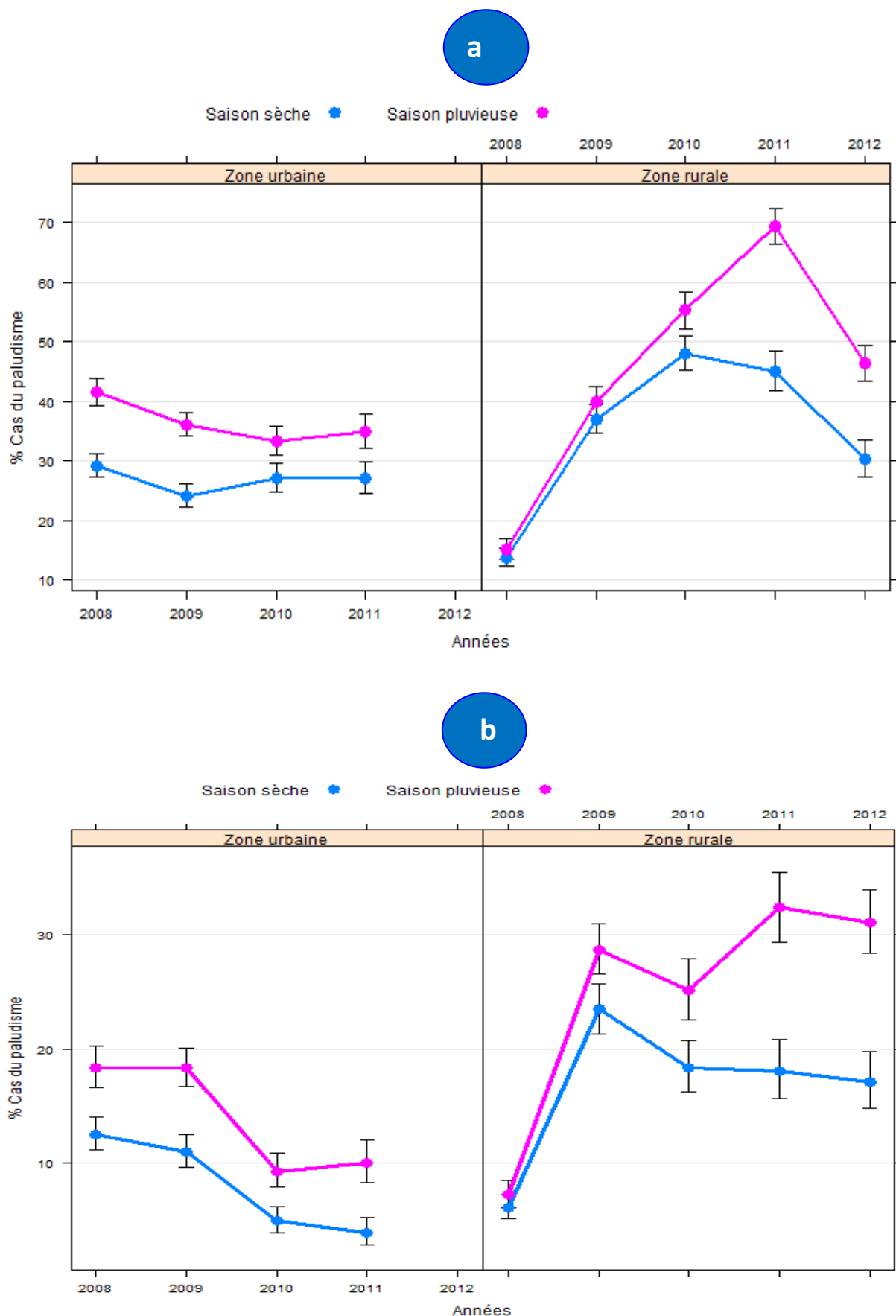
**Figure 24:** Vulnérabilité au paludisme des patients enregistrés à Sonsoro dans le secteur S+ et à Kandi-centre dans le secteur S++ de 2008 à 2012 suivant la classe d'âge

### 2.1.2. Fréquence des cas de paludisme dans les secteurs S+ et S++ suivant les saisons de l'année entre 2008 et 2013

Le dépouillement des données recueillies dans les registres de soins curatifs à Sonsoro (secteur S+) et à Gansosso (secteur S++) a permis d'évaluer la fréquence des cas de paludisme et d'apprécier le poids du paludisme dans les motifs de consultations dans les deux formations sanitaires.

Des cas de paludisme ont été enregistrés aussi bien en saison sèche qu'en saison pluvieuse dans les deux secteurs. La fréquence des cas de paludisme est plus élevée pendant la saison pluvieuse : entre 42 % à 33 % des motifs de consultation à l'hôpital du secteur S++ contre 29% à 24 % pendant la saison sèche. Par contre, dans le secteur S+, les fluctuations sont plus importantes. La fréquence du paludisme a varié entre 15 et 69% pendant la saison pluvieuse contre 14 à 48% pendant la saison sèche dans l'ensemble de la population étudiée (Figure 25a). La même tendance a été observée chez les enfants de moins de 10 ans, avec des fréquences de paludisme plus élevées pendant la saison pluvieuse (Figure 25b). Sur la période

2008-2012, les fréquences annuelles par saison des cas cliniques sont globalement plus importantes dans le secteur S+ que dans le secteur S++.



**Figure 25:** Fréquence des cas de paludisme dans deux zones rurale et urbaine de Kandi chez les tous les patients (a) et particulièrement chez les enfants de 0 à 9 ans (b) de 2008 à 2012.

### **2.1.3. Poids du paludisme pendant la saison sèche**

#### **2.1.3.1. Dans tous les groupes d'âges**

Les odds ratio et les valeurs de probabilités ont été calculés pour voir s'il existe une analogie entre la fréquence du paludisme pendant la saison sèche et pendant la saison pluvieuse dans les deux sites d'étude.

A Sonsoro dans le secteur S+, les fréquences des cas de paludisme sont similaires pendant la saison pluvieuse et la saison sèche en 2008 ( $p=0,2326$ ) et en 2009 ( $p=0,0937$ ). A l'inverse, de 2010 à 2012, les fréquentations dans cette formation sanitaire pour cause de paludisme sont significativement plus nombreuses pendant la saison pluvieuse ( $p<0,05$ ). A Gansosso dans le secteur S++, la situation semble différente selon que l'on se trouve en saison sèche ou en saison pluvieuse. De 2008 à 2012, les fréquences des cas de paludisme sont significativement différentes pendant les deux saisons ( $p<0,05$ ) (Tableau XIX).

Les données recueillies suggèrent que même si globalement la fréquence des cas de paludisme reste plus importante pendant les saisons pluvieuses, le secteur S+ (moins aride) présente une particularité qui se traduit par une similarité des fréquences du paludisme tout au long de l'année. Par ailleurs, les données cumulées des cinq dernières années révèlent que la fréquence des cas de paludisme signalés dans le secteur S+ (Sonsoro) pendant la saison sèche est significativement supérieure à celle enregistrée dans le secteur S++ (Kandi-centre) au cours de la même période ( $X\text{-squared} = 95.4732$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.00001$ ). Il en est de même pour la saison pluvieuse à Sonsoro où le nombre de cas de paludisme enregistré de 2008 à 2012 est significativement plus important que à Gansosso, dans le Centre-ville de Kandi ( $X\text{-squared} = 189.0484$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.00001$ ).

#### **2.1.3.2. Chez les enfants de 0 à 9 ans**

D'un point de vue général, la situation épidémiologique du paludisme chez les enfants de moins de 10 ans ne diffère pas de celle de l'ensemble de la population étudiée. A Sonsoro dans le secteur S+, la fréquence d'enfants souffrant du paludisme en 2008 est la même pour la saison pluvieuse et pour la saison sèche ( $p = 0.175$ ) (Tableau XXa).

Par ailleurs, pendant la saison sèche, la fréquence du paludisme chez les enfants de moins de 10 ans est considérablement plus élevée dans le secteur S+ (Sonsoro) comparativement à celle

du secteur S++ (Kandi-centre) ( $X^2 = 119.6979$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.00001$ ). Il en est de même pour la saison pluvieuse ( $X^2 = 131.2305$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.00001$ ).

De plus, pour la période allant de 2008 à 2012, les enfants de moins de 10 ans ont été considérablement touchés par les accès palustres :

- dans le secteur S+ (Sonsororo), ils représentent respectivement 57% (1467/2590) et 49% (973/2003) du nombre total des cas diagnostiqués pendant la saison pluvieuse et pendant la saison sèche (Tableau XX b) ;
- dans le secteur S++ (Kandi-centre), ils représentent respectivement 41% (949/2334) et 33% (574/1723) (Tableau XX b).

Ces résultats révèlent d'une part une vulnérabilité évidente des enfants vis-à-vis du paludisme et d'autre part une gravité plus accrue de la situation épidémiologique du paludisme infantile dans le secteur moins aride S+.

**Tableau XIIX:** variation de fréquence des cas de paludisme suivant les saisons de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++

| Secteurs<br>(localités)           | Années       | Saisons               | N<br>Cas    | Total de<br>patients | %<br>Cas                 | OR <sup>1</sup> | IC-<br>95%(OR) <sup>2</sup> | p-value           |
|-----------------------------------|--------------|-----------------------|-------------|----------------------|--------------------------|-----------------|-----------------------------|-------------------|
| Secteur S+<br>(Sonsoso)           | 2008         | s. pluie <sup>3</sup> | 273         | 1803                 | 15.14 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche <sup>4</sup> | 284         | 2066                 | 13.75 <sup>a</sup>       | 1.12            | [0.94-1.34]                 | 0.2326            |
|                                   | 2009         | s. pluie              | 650         | 1624                 | 40.02 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 529         | 1428                 | 37.04 <sup>a</sup>       | 1.13            | [0.98-1.31]                 | 0.0937            |
|                                   | 2010         | s. pluie              | 547         | 988                  | 55.36 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 542         | 1127                 | 48.09 <sup>b</sup>       | 1.34            | [1.13-1.59]                 | 0.00091           |
|                                   | 2011         | s. pluie              | 625         | 900                  | 69.44 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 381         | 846                  | 45.04 <sup>b</sup>       | 2.77            | [2.28-3.37]                 | <0.0001           |
|                                   | 2012         | s. pluie              | 495         | 1067                 | 46.39 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 267         | 881                  | 30.31 <sup>b</sup>       | 1.99            | [1.65-2.40]                 | <0.0001           |
|                                   | <b>Total</b> | <b>s. pluie</b>       | <b>2590</b> | <b>6382</b>          | <b>40.58<sup>a</sup></b> | <b>1.00</b>     | <b>-</b>                    | <b>-</b>          |
|                                   |              | <b>s. sèche</b>       | <b>2003</b> | <b>6348</b>          | <b>31.55<sup>b</sup></b> | <b>1.48</b>     | <b>[1.38-1.59]</b>          | <b>&lt;0.0001</b> |
| Secteur S++<br>(Kandi-<br>centre) | 2008         | s. pluie              | 749         | 1803                 | 41.54 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 602         | 2066                 | 29.14 <sup>b</sup>       | 1.73            | [1.51-1.97]                 | <0.0001           |
|                                   | 2009         | s. pluie              | 760         | 2102                 | 36.16 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 445         | 1838                 | 24.21 <sup>b</sup>       | 1.77            | [1.54-2.03]                 | <0.0001           |
|                                   | 2010         | s. pluie              | 477         | 1428                 | 33.40 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 378         | 1391                 | 27.17 <sup>b</sup>       | 1.34            | [1.14-1.58]                 | 0.00036           |
|                                   | 2011         | s. pluie              | 348         | 995                  | 34.97 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                           | -                 |
|                                   |              | s. sèche              | 298         | 1097                 | 27.16 <sup>b</sup>       | 1.44            | [1.20-1.74]                 | 0.00012           |
|                                   | <b>Total</b> | <b>s. pluie</b>       | <b>2334</b> | <b>6328</b>          | <b>36.88<sup>a</sup></b> | <b>1.00</b>     | <b>-</b>                    | <b>-</b>          |
|                                   |              | <b>s. sèche</b>       | <b>1723</b> | <b>6392</b>          | <b>26.96<sup>b</sup></b> | <b>1.58</b>     | <b>[1.47-1.71]</b>          | <b>&lt;0.0001</b> |

Les %cas de chaque année et de chaque zone portant des lettres différentes sont statistiquement différents.

<sup>1</sup> Odds ratio

<sup>2</sup> Intervalle de confiance à 95% de l'odds ratio

<sup>3</sup> Saison pluvieuse

<sup>4</sup> Saison sèche

**Tableau XX a:** variation de fréquence des cas de paludisme chez les enfants de 0-9 ans suivant les saisons de 2008 à 2012 dans les secteurs S+ et S++

| Secteurs (localités)       | Années       | Saisons               | N Cas       | Total de patients | % Cas                    | OR <sup>1</sup> | IC-95%(OR) <sup>2</sup> | p                 |
|----------------------------|--------------|-----------------------|-------------|-------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------|
| Secteur S+ (Sonsoso)       | 2008         | s. pluie <sup>3</sup> | 131         | 1803              | 07.27 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche <sup>4</sup> | 127         | 2066              | 06.15 <sup>a</sup>       | 1.19            | [0.93-1.54]             | 0.175             |
|                            | 2009         | s. pluie              | 466         | 1624              | 28.69 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 335         | 1428              | 23.46 <sup>b</sup>       | 1.31            | [1.11-1.55]             | 0.0011            |
|                            | 2010         | s. pluie              | 248         | 988               | 25.10 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 207         | 1127              | 18.37 <sup>b</sup>       | 1.49            | [1.21-1.83]             | 0.0002            |
|                            | 2011         | s. pluie              | 291         | 900               | 32.33 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 153         | 846               | 18.09 <sup>b</sup>       | 2.16            | [1.73-2.71]             | <0.0001           |
|                            | 2012         | s. pluie              | 331         | 1067              | 31.02 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 151         | 881               | 17.14 <sup>b</sup>       | 2.17            | [1.75-2.70]             | <0.0001           |
|                            | <b>Total</b> | <b>s. pluie</b>       | <b>1467</b> | <b>6382</b>       | <b>22.99<sup>a</sup></b> | <b>1.00</b>     | <b>-</b>                | <b>-</b>          |
|                            |              | <b>s. sèche</b>       | <b>973</b>  | <b>6348</b>       | <b>15.33<sup>b</sup></b> | <b>1.65</b>     | <b>[1.51-1.80]</b>      | <b>&lt;0.0001</b> |
| Secteur S++ (Kandi-centre) | 2008         | s. pluie              | 331         | 1803              | 18.36 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 259         | 2066              | 12.54 <sup>b</sup>       | 1.57            | [1.31-1.87]             | <0.0001           |
|                            | 2009         | s. pluie              | 385         | 2102              | 18.32 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 203         | 1838              | 11.04 <sup>b</sup>       | 1.75            | [1.46-2.10]             | <0.0001           |
|                            | 2010         | s. pluie              | 133         | 1428              | 09.3 <sup>a</sup>        | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 69          | 1391              | 4.96 <sup>b</sup>        | 1.97            | [1.45-2.66]             | <0.0001           |
|                            | 2011         | s. pluie              | 100         | 995               | 10.05 <sup>a</sup>       | 1.00            | -                       | -                 |
|                            |              | s. sèche              | 43          | 1097              | 03.92 <sup>b</sup>       | 2.74            | [1.89-3.96]             | <0.0001           |
|                            | <b>Total</b> | <b>s. pluie</b>       | <b>949</b>  | <b>6328</b>       | <b>15.00<sup>a</sup></b> | <b>1.00</b>     | <b>-</b>                | <b>-</b>          |
|                            |              | <b>s. sèche</b>       | <b>574</b>  | <b>6392</b>       | <b>08.98<sup>b</sup></b> | <b>1.79</b>     | <b>[1.60-1.99]</b>      | <b>&lt;0.0001</b> |

Les %cas de chaque année et de chaque zone portant des lettres différentes sont statistiquement différents.

<sup>1</sup> Odds ratio

<sup>2</sup> Intervalle de confiance à 95% de l'odds ratio

<sup>3</sup> Saison pluvieuse

<sup>4</sup> Saison sèche

**Tableau XX b:** Variation de fréquence des cas de paludisme chez les enfants de moins de 10 ans dans les cas de paludisme enregistrés suivant les saisons dans les secteurs S+ et S++

| Secteurs<br>(localités)        | Années    | Saisons               | N<br>enfants | Total de<br>cas de<br>paludisme | % des<br>Enfants   | OR <sup>1</sup> | IC-<br>95% (OR) <sup>2</sup> | p-value |
|--------------------------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|--------------------|-----------------|------------------------------|---------|
| Secteur S+<br>(Sonsoso)        | 2008      | s. pluie <sup>3</sup> | 1467         | 2590                            | 56,64 <sup>a</sup> | 1.00            | -                            | -       |
|                                | à<br>2012 | s. sèche <sup>4</sup> | 973          | 2003                            | 48,58 <sup>b</sup> | 1.38            | [1.23-1.55]                  | <0.0001 |
| Secteurs S++<br>(Kandi-centre) | 2008      | s. pluie              | 949          | 2334                            | 40,66 <sup>a</sup> | 1.00            | -                            | -       |
|                                | à<br>2011 | s. sèche              | 574          | 1723                            | 33,31 <sup>b</sup> | 1.37            | 1.204586                     | <0.0001 |

Les %cas de chaque année et de chaque zone portant des lettres différentes sont statistiquement différents.

<sup>1</sup> Odds ratio

<sup>2</sup> Intervalle de confiance à 95% de l'odds ratio

<sup>3</sup> Saison pluvieuse

<sup>4</sup> Saison sèche

## **2.2. Etude de la prévalence du *Plasmodium falciparum* dans les secteurs S+ et S++ pendant la saison sèche**

Pour compléter les données recueillies dans les registres de soins curatifs, nous avons conduit une enquête transversale sur la prévalence de *P. falciparum* chez les enfants. Pour faciliter le travail, nous avons identifié deux écoles primaires publiques, l'une à Sonsoror dans le secteur S+, et l'autre à Gansosso au centre-ville de Kandi dans le secteur S++. Des tests de diagnostic rapide du paludisme ont été effectués chez 400 écoliers âgés de moins de 10 ans provenant de ces écoles.

### **2.2.1. Caractéristiques de la population d'étude**

Les tests de diagnostic rapide du paludisme (TDR) ont été effectués sur un total de 400 écoliers dont 200 écoliers à Sonsoror (secteur S+) et 200 écoliers au centre ville de Kandi (secteur S++). La répartition des enfants suivant leur sexe montre que dans le secteur S++, les filles sont majoritaires (53 %) alors que dans le secteur S+, c'est le phénomène contraire avec respectivement 54.5 % de garçons et 45.5 % de filles (Tableau XXI).

En ce qui concerne l'âge des enfants, bien qu'ils aient tous moins de 10 ans, une moyenne d'âge significativement plus basse a été notée dans le secteur S++ (5,42 ans) comparativement au secteur S+ (6,44 ans). De plus, l'enfant le plus âgé à Kandi-centre avait 7 ans contre 9 ans à Sonsoror (Tableau XXI).

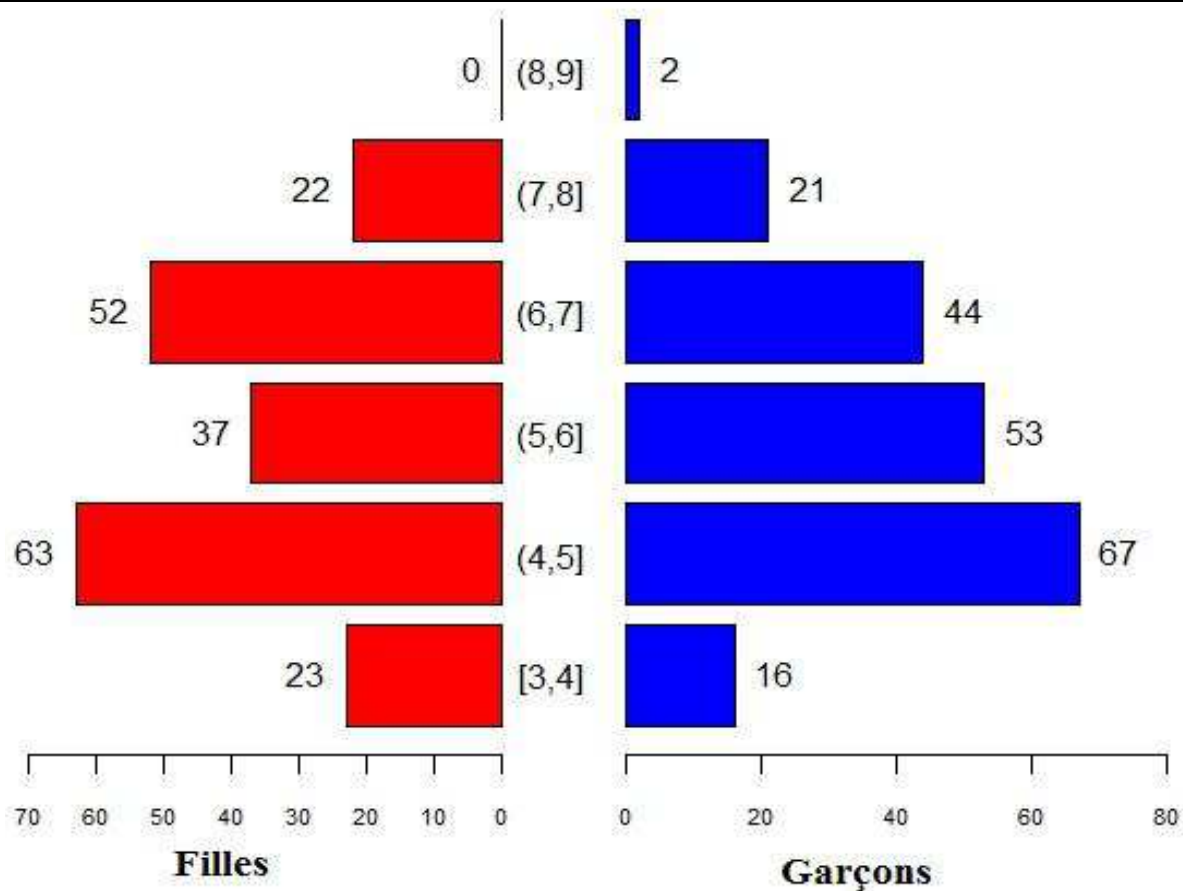
En cumulant les données des deux localités, on note que la pyramide des âges présente la même allure au sein du groupe des garçons que de celui des filles (Figure 26). Par ailleurs, les enfants de 4-5 ans étaient les plus nombreux avec un effectif de 130 sur un total de 400 enfants (32.5 %). Les enfants de moins de 5 ans représentaient 42.25 % de l'effectif total. Par contre, très peu d'enfants avaient plus de 7 ans d'âge (11.25 %).

Par ailleurs, le poids moyen des enfants est similaire à Kandi-centre (19.54 Kg ; IC : [19.16-19.92]) et à Sonsoror (19.24 Kg ; IC : [18.72-19.77]).

Pour ce qui est du niveau d'étude des enfants, à Kandi-centre (secteur S++) la quasi-totalité des enfants étaient au Cours d'Initiation (CI). A Sonsoror (secteur S+) par contre, les écoliers répondant à notre critère d'âge étaient au CI, au CP et au CEI (Tableau XXI).

**Tableau XXI :** Répartition selon le sexe et l'âge des enfants retenus pour la réalisation des tests de diagnostic rapide du paludisme

|                   |           | Secteur S++<br>(Kandi Centre) |               |               | Secteur S+<br>(Sonsororo) |               |               |
|-------------------|-----------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------------------|---------------|---------------|
| Qualitatives      | Modalités | N                             | %             | IC-95%        | N                         | %             | IC-95%        |
| Sexe              | Filles    | 106                           | 53.00         | [46.09-59.80] | 091                       | 45.50         | [38.75-52.42] |
|                   | Garçons   | 094                           | 47.00         | [40.20-53.91] | 109                       | 54.50         | [47.58-61.25] |
| Niveau<br>d'étude | Maternel  | 000                           | 00.00         | [00.00-01.88] | 020                       | 10.00         | [06.57-14.94] |
|                   | CI        | 199                           | 99.50         | [97.22-99.91] | 058                       | 29.00         | [23.15-35.64] |
|                   | CP        | 001                           | 00.50         | [00.09-02.78] | 096                       | 48.00         | [41.18-54.90] |
|                   | CE1       | 000                           | 00.00         | [00.00-01.88] | 026                       | 13.00         | [09.03-18.37] |
| Quantitatives     |           | Moyenne                       | IC-95%        | Min/Max       | Moyenne                   | IC-95%        | Min/Max       |
| Âges (années)     |           | 05.42 <sup>a</sup>            | [05.30-05.53] | 03.00/07.00   | 06.44 <sup>b</sup>        | [06.25-06.63] | 03.00/09.00   |
| Poids (kg)        |           | 19.54 <sup>a</sup>            | [19.16-19.92] | 05.00/31.00   | 19.24 <sup>a</sup>        | [18.72-19.77] | 10.00/29.00   |



**Figure 26:** Pyramide des âges des enfants soumis aux tests de diagnostic rapide du paludisme

### 2.2.2. Résultats de la prévalence du *P. falciparum* dans les secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi

Au total 400 tests de diagnostic rapide du paludisme ont été réalisés à Kandi-centre (secteur S++) et à Sonsoro (secteur S+). Les résultats révèlent que la prévalence du *P. falciparum* est significativement plus élevée dans le secteur S+ (41 % ; IC-95% : [34.42-47.92]) que dans le secteur S++ (7,5 % ; IC-95% : [04.60-12.00]). Dans le secteur moins aride S+, les TDR+ diagnostiqués sont plus de 5 fois supérieurs à ceux du secteur le plus aride S++. Nous avons eu un cas de TDR indéterminé à Kandi-centre et deux à Sonsoro (Tableau XXII).

**Tableau XXII:** Résultats des tests de diagnostic rapide (TDR) effectués chez 400 écoliers à Kandi-centre et à Sonsoro

| Résultats    | Secteur S++<br>(Kandi Centre) |        |               | Secteur S+<br>(Sonsoro) |        |               |
|--------------|-------------------------------|--------|---------------|-------------------------|--------|---------------|
|              | N                             | %      | IC-95%        | N                       | %      | IC-95%        |
| Indéterminés | 001                           | 00.50  | [00.09-02.78] | 002                     | 01.00  | [00.27-03.57] |
| TDR -        | 184                           | 92.00  | [87.40-95.02] | 116                     | 58.00  | [51.07-64.63] |
| TDR +        | 015                           | 07.50  | [04.60-12.00] | 082                     | 41.00  | [34.42-47.92] |
| Total        | 200                           | 100.00 | -             | 200                     | 100.00 | -             |

### 2.2.3. Influences des facteurs collatéraux sur la prévalence du paludisme

Au sein du groupe d'enfants retenus pour l'étude de la prévalence du paludisme pendant la saison sèche de longue durée dans les deux secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi, nous avons recherché l'influence éventuelle des facteurs tels que le degré d'aridité, le sexe, le niveau d'étude, l'âge et le poids des enfants sur la positivité des TDR.

La régression logistique effectuée montre que parmi les variables ci-dessus énumérées, seul le degré d'aridité de la localité de résidence des enfants semble avoir une influence significative sur la fréquence du paludisme ( $p$  (LR-test) = 0.00000041) dans les deux secteurs considérés. Globalement et théoriquement, il en ressort que pour un enfant vivant à Sonsoro dans le secteur S+, le risque d'avoir le paludisme en saison sèche est multiplié par 8 (OR=7.88 ; IC-95% : [03.54-17.51]) par rapport à un enfant de même profil habitant à Kandi dans le secteur

S++. Les autres facteurs (le sexe, le niveau d'étude, l'âge et le poids) ne semblent pas jouer un rôle important dans le risque de paludisme (Tableau XXIII).

**Tableau XXIII:** Evaluation de l'influence du degré d'aridité, du sexe, du niveau d'étude, de l'âge et du poids des enfants sur la fréquence du paludisme dans les secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi par régression logistique

| Facteurs                  | Modalités   | N (%)     | coefficients | OR.adj <sup>1</sup> | IC-95% <sup>2</sup><br>(OR.adj) | p (Wald test <sup>3</sup> ) | p (LR-test <sup>4</sup> ) |
|---------------------------|-------------|-----------|--------------|---------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| <b>Aridité</b>            | Secteur S++ | 15(07.61) | -            | 01.00               | -                               | -                           | 0.00000041                |
|                           | Secteur S+  | 82(41.62) | 02.06        | 07.88               | [03.54-17.51]                   | 0.00000041                  |                           |
| <b>Sexe</b>               | Filles      | 41(21.13) | -            | 01.00               | -                               | -                           | 0.613                     |
|                           | Garçons     | 56(27.59) | 00.13        | 01.14               | [00.69-01.90]                   | 0.613                       |                           |
| <b>Niveau<br/>d'étude</b> | Maternel    | 06(31.58) | -            | 01.00               | -                               | -                           | 0.32                      |
|                           | CI          | 38(14.84) | -00.38       | 00.68               | [00.19-02.44]                   | 0.555                       |                           |
|                           | CP          | 51(47.42) | 00.20        | 01.95               | [00.68-05.56]                   | 0.549                       |                           |
|                           | CE1         | 07(28.00) | -01.30       | 00.27               | [00.04-01.67]                   | 0.156                       |                           |
| <b>Âge</b>                |             |           | 00.20        | 01.22               | [00.81-01.85]                   | 0.339                       | 0.339                     |
| <b>Poids</b>              |             |           | 00.04        | 01.04               | [00.94-01.16]                   | 0.444                       | 0.444                     |

<sup>1</sup> OR.adj = Odds Ratio ajusté à partir de la régression logistique ; il a permis d'apprécier la variation de la fréquence du paludisme entre les modalités d'un facteur.

<sup>2</sup> IC-95% (OR.adj) = donne l'intervalle de confiance au seuil de 95% de l'odds ratio ajusté.

<sup>3</sup> p (Wald test) = donne les p-value de la variation de la fréquence du paludisme entre les modalités et la modalité de référence d'un facteur. C'est le p issu du test de Wald (Wald test).

<sup>4</sup> p (LR-test) = donne les p-value qui ont permis de statuer sur la significativité de l'influence d'un facteur sur la fréquence du paludisme. C'est le p issu du test de rapport de vraisemblance (LR test).

### 3. Discussion

La longévité de *An. gambiae* et l'aptitude d'adaptation de cette espèce aux conditions défavorables à sa survie sont des paramètres qui jouent un important rôle dans le maintien de la transmission du paludisme pendant les saisons sèches de longue durée et dans l'endémicité de cette parasitose. Ce chapitre s'est proposé d'investiguer sur la situation clinique du paludisme pendant cinq années dans les secteurs S+ et S++ de la commune de Kandi puis d'évaluer la prévalence des porteurs de *P. falciparum* dans un groupe d'enfants pendant une période de très forte sécheresse, c'est-à-dire dans un contexte où la transmission du paludisme est très faible voire nulle.

Dans le bilan rétrospectif réalisé sur les données cliniques pendant la saison sèche, la période concernée a été un quinquennat afin de disposer d'un effectif assez élevé de cas de paludisme et être sûr d'approcher la réalité. Cela nous a aussi permis de prendre en compte les éventuels biais liés aux variations qui pourraient survenir d'une année à l'autre. Nos données de la prévalence du paludisme pendant la saison sèche ont montré une similitude avec les fréquences rétrospectives des cas cliniques de paludisme. Cela implique que la pérennité de la transmission du paludisme est clairement établie dans la municipalité de Kandi. Sous le climat soudanien et la très forte aridité caractérisant les saisons sèches de longue durée, des infections récentes de paludisme ont été détectées à Kandi. L'environnement et l'aridité n'ont significativement pas influencé le profil épidémiologique du paludisme à Kandi. Même si la prévalence du paludisme a été d'autant faible que le secteur d'étude est aride, il est à souhaiter que la situation du paludisme qui est habituellement négligée sous les écosystèmes arides ou pendant les sécheresses de longue durée fasse de plus en plus l'objet de recherches approfondies. Les efforts de lutte en milieu tropical ne doivent pas seulement se déployer pendant la saison pluvieuse, considérée souvent à tort comme la seule période de transmission. La lutte antivectorielle doit aussi être appliquée aux périodes arides et dans les écosystèmes arides pour plus d'efficacité.

En dehors du degré d'aridité des sites d'étude, il est impossible de ne pas analyser les résultats obtenus dans les différentes localités sillonnées par rapport à leur degré d'urbanisation. Dans le secteur S+, Sonsoro est situé en milieu rural alors que dans le secteur S++, Gansosso est situé dans le centre-ville de Kandi, c'est-à-dire, en milieu urbain. Selon nos données, le problème du paludisme est accru en milieu urbain. Nos constats corroborent ceux de Gardiner *et al.* (1984) dans le sud-Ghana, ceux de Watts *et al.* (1990) en Zambie, ceux de Trape (1987)

sur ses travaux de Brazzaville, et ceux de Hay *et al.* (2005) dans la plupart des contrées de l'Afrique tropicale qui ont tous remarqué que la baisse de la densité anophélienne qui accompagne l'urbanisation a des répercussions parasito-cliniques considérables. La forte fréquence des cas cliniques et des TDR+ en milieu rural comparativement au milieu urbain est en relation avec les données entomologiques qui montrent que, malgré la saison sèche, il existe à Sonsororo (milieu rural) quelques poches de gîtes d'*An. gambiae* (Govoetchan *et al.*, 2014). En revanche, l'existence des cas de paludisme en saison sèche à Kandi-ville où les gîtes sont très rares indique qu'il existe un niveau seuil de transmission au-delà duquel les cas de paludisme se manifestent (Trape, 2001).

La situation épidémiologique de la zone rurale Sonsororo est le reflet des indicateurs entomologiques qui dépendent eux-mêmes directement de l'écologie du milieu. En effet, Sonsororo, contrairement au centre-ville de Kandi, présente une caractéristique géohydrographique différente. Il est bordé par l'affluent d'un cours d'eau permanent. Ainsi, pendant que les gîtes classiques disparaissent du fait de la sécheresse et de la très forte chaleur qui sévit à Kandi à cette période de l'année, l'affluent de la Sota qui borde le village de Sonsororo sert de gîte de relais à la reproduction des moustiques en général et des anophèles en particulier. De plus des habitats larvaires domestiques d'anophèles ont été enregistrés à Sonsororo. Ces deux facteurs expliquent la prévalence relativement élevée du paludisme dans le secteur S+. D'autres causes telles que les pratiques agricoles et pastorales pourraient accentuer la reproduction des anophèles pendant la saison sèche car l'eau utilisée pour les activités champêtres et d'élevage pourrait servir de gîte larvaire aux moustiques en attente de ponte.

L'état des lieux que nous faisons dans le secteur S+ (82,1 piqûres infectantes par homme et par an) et dans le secteur S++ (5,5 piqûres infectantes par homme et par an) reflète des niveaux élevés de transmission du paludisme en relation avec les données parasito-cliniques. Plusieurs études préconisent que, pour être durablement efficaces, les activités de lutte antivectorielle doivent au minimum abaisser l'exposition individuelle des personnes protégées à moins de 2 piqûres d'anophèles infectés par personne et par an pour parvenir à un impact durable et significatif dans la population (Alles *et al.*, 1998 ; Robert et Trape, 1997 ; Trape et Rogier, 1997). Pour atteindre cet objectif pendant la saison sèche, il faut mettre en place des stratégies de lutte antivectorielle adaptées. La pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide à effet rémanent est possible quand on considère que la région de Kandi et environs connaît une seule période de transmission du paludisme (de mai à octobre). Cependant, compte tenu des

températures nocturnes très élevées pendant la saison sèche contraignant les populations à prendre l'habitude de se coucher au dehors, la transmission du paludisme au cours de cette saison de l'année pourrait être renforcée à l'extérieur des habitations. Face à cette situation, il faudrait encourager les populations contraintes à dormir dehors de faire usage de leurs moustiquaires et initier la confection de moustiquaires adaptées à une installation à l'extérieur des maisons. En effet, il est clair que l'utilisation des moustiquaires pendant la saison sèche est très pénible car il fait très chaud. Pour le succès d'une campagne de lutte antivectorielle, il est important de considérer les conditions dans lesquelles vivent les populations et de mettre à leur disposition des outils adaptés à leurs pratiques et leurs habitudes. L'hypothèse des parfums ou déodorants répulsifs n'est pas à écarter, il faut qu'ils soient légers et pas contraignants.

Les résultats de dépouillement ont aussi révélé que les fréquences des cas de paludisme ont très peu varié suivant les années dans le milieu urbain (Kandi-centre) alors qu'en milieu rural (Sonsororo), d'importantes fluctuations ont été constatées. Cela serait probablement lié à la façon dont le diagnostic se faisait car de 2008 à 2012, des différences notables ont été constatées. En effet, entre 2008 et 2010, la plupart des cas de paludisme étaient toujours traités sur la base de signes cliniques dans les formations sanitaires. Certes dans le plan stratégique quinquennal de lutte contre le paludisme (2006-2010), la prise en charge du paludisme reposait sur la confirmation parasitologique mais les ruptures répétées des stocks de TDR surtout dans les établissements de santé périphériques (comme le CSA de Sonsororo) ont constitué un sérieux handicap au respect du cahier de charges. Dans ces conditions, un épisode récent de fièvre ou de corps chaud suffisait pour suspecter le paludisme simple et instituer un traitement antipaludique surtout pendant la saison de forte transmission palustre. C'est certainement la raison qui justifie les fréquences de paludisme qui ont beaucoup vacillé de 2008 à 2010 (surtout à Sonsororo). Dans le CSC de Gansosso situé au centre ville de Kandi, ce problème ne se posait pas autant car il existe sur place un laboratoire d'analyses biomédicales. Par la suite, les imperfections précédemment soulignées ont été améliorées et les systèmes d'approvisionnement en TDR des formations sanitaires ont été redynamisés. En effet, le plan stratégique national élaboré par le PNLP pour le quinquennat 2011-2015 exigeait que tout cas suspect soit confirmé parasitologiquement par microscopie dans les centres équipés de laboratoire (comme le CSC de Gansosso) ou par TDR dans les formations périphériques (comme le CSA de Sonsororo). C'est pourquoi, à compter de l'année 2011, les

fréquences des cas de paludisme n'ont pas connu assez de fluctuations comme ce fut le cas entre 2008 et 2010.

Pour les cas cliniques rapportés dans les deux formations sanitaires où ont lieu nos collectes de données, l'âge médian relevé chez les patients de Sonsoro (8 ans) est significativement supérieur à celui des patients de Kandi-centre entre 2008 et 2012. Cette situation traduit une vulnérabilité plus grande des enfants de Sonsoro, par rapport à ceux de Kandi. Même si ces enfants paraissent plus exposés au paludisme au regard de l'existence quasi-permanente des gîtes de reproduction de moustiques à Sonsoro, une légèreté dans la protection de ces enfants pendant les nuits face aux piqûres de moustiques pourrait être pointée du doigt. Nos résultats sont comparables à ceux de Trape et Zoulani (1987a et b) qui, en travaillant dans plusieurs quartiers de Brazzaville, ont conclu que l'âge moyen des cas de paludisme grave et des décès dus au paludisme survenaient à un âge d'autant plus jeune que la transmission était plus forte. Ce qui semble être le cas à Sonsoro. D'un autre côté, la faible fréquence des TDR+ dans le milieu urbain à Kandi peut être due à une automédication des populations et à une prise en charge à domicile du paludisme dès l'apparition des premiers symptômes notamment la fièvre. Selon Gardiner *et al.* (1984), la faible fréquence du paludisme au sein d'une communauté urbaine, particulièrement les enfants de moins de 10 ans, est associée à une utilisation répandue des médicaments antipaludiques comme traitement prophylactique. Dans ces conditions, les cas de paludisme traités avec succès à domicile ne sont pas référés au centre de santé.

#### **4. Conclusion**

L'enquête parasitologique réalisée en mars 2013 et les données cliniques obtenues dans les formations sanitaires de 2008 à 2012 montrent que la situation épidémiologique du paludisme n'est pas uniforme à Kandi. Dans le secteur S+, nos données révèlent une fréquence plus élevée des cas de paludisme comparativement au secteur S++. Le degré d'aridité a clairement été identifié comme un facteur collatéral important en rapport avec la densité des anophèles. A Sonsoro dans le secteur S+, la prévalence du paludisme pendant la saison sèche a été 8 fois plus élevée qu'à Gansosso, dans le secteur S++ de Kandi. Les données parasitologiques sont le reflet des données entomologiques, et plus précisément des taux d'inoculation entomologique qui ont été très élevés dans le secteur le moins aride S+ par rapport au secteur le plus aride S++.

## **Chapitre 7 :**

---

### **Discussion générale, conclusion et perspectives**

## **1. La biologie et le comportement des vecteurs du paludisme en absence prolongée des gîtes de ponte**

L'étude du comportement et du cycle biologique des anophèles vecteurs du paludisme dans un contexte de sécheresse est un aspect de la lutte antivectorielle qui est bien souvent banalisé. Dans notre thèse, nous avons réussi à maintenir pendant 40 jours des femelles d'*An. gambiae* en absence des gîtes de ponte. Pendant cette période, nous avons noté une similitude entre la fécondité des femelles témoins (femelles chez qui aucune rétention d'œufs n'a été provoquée) et celles ayant été forcées de garder les œufs dans les ovaires au-delà de la durée du cycle gonotrophique. Nous nous attendions à enregistrer une fécondité de plus en plus décroissante au fur et à mesure que le temps de rétention s'allonge. Mais des résultats de nos simulations, il ressort que le séjour prolongé des œufs d'anophèles dans les ovaires n'affecte pas le nombre d'œufs, mais plutôt les embryons de ces œufs. Les études réalisées sur la fécondité des moustiques en milieu expérimental, ont souvent abouti à des résultats contradictoires (Dieter *et al.*, 2012, Yaro *et al.*, 2012). Les résultats parfois divergents obtenus sont évidemment liés aux particularités des méthodes utilisées. Néanmoins, il a clairement été établi le rôle très important de certains paramètres tels que la taille des moustiques (Gary *et al.*, 2001), les réserves protéiques accumulées au cours de la vie larvaire (Carvalho *et al.*, 2002 ; Alto et Juliano 2001), et la prise de repas sanguin supplémentaire (Dieter *et al.*, 2012) qui ont été identifiés comme des facteurs ayant une grande influence sur le nombre d'œufs. Dans la présente étude, le plateau technique dont nous disposons ne nous a pas permis d'évaluer la taille des moustiques utilisés. Mais cette insuffisance n'influence pas les résultats obtenus, à savoir, la similitude de la ponte moyenne chez les femelles témoins et celles forcées de garder leurs œufs dans les ovaires.

Nos données suggèrent que la vie intra-ovarienne prolongée des œufs d'anophèles est préjudiciable à l'éclosion de ces œufs et à l'émergence des adultes. Les taux d'éclosion et d'émergence diminuent progressivement à mesure que la durée de rétention des œufs devient importante. Ces résultats corroborent ceux de Dieter *et al.* (2012) qui a constaté que la diminution du taux d'éclosion peut atteindre 2% avec 7 jours de rétention dans les ovaires après la durée normale du cycle gonotrophique. Ce constat serait dû au fait que, l'embryon des œufs d'anophèle, sensible à un séjour prolongé dans les ovaires, en est physiologiquement affecté.

Selon certains auteurs, durant la sécheresse, les anophèles trouvent refuge dans des abris et limitent au maximum les activités de vol et donc, la recherche de repas sanguin et d'habitats aquatiques pour l'oviposition (Benoit *et al.*, 2011 ; Benoit et Denlinger, 2010 ; Danks, 2007). Selon ces auteurs, les anophèles ne ressortent de leur cachette que pour « faire le plein » de repas sanguin. Ce comportement des anophèles est également observé dans la présente étude. En effet, nous avons noté qu'avec les femelles gravides privées de pondoir, la prise de repas sanguin n'est plus systématique contrairement à ce qui est observé avec les femelles à jeun. Par ailleurs, le comportement de reproduction des anophèles pendant les saisons sèches suscite plusieurs paradoxes. Certains travaux rapportent que certains spécimens d'anophèles connaissent une dissociation gonotrophique c'est-à-dire qu'ils prennent des repas sanguins pendant la sécheresse, mais ne développent pas les œufs dans leurs ovaires (exemple : *An. maculipennis atroparvus* et *An. hyrcanus*) alors que d'autres connaissent la concordance gonotrophique, c'est-à-dire qu'ils ne prennent pas de repas sanguin et ne développent pas non plus des œufs (exemple : *An. maculipennis messae* et *An. superpictus*) (Vinogradova, 1960; Washino, 1977). Ces différences dans la physiologie de reproduction des anophèles pendant les saisons arides expliquent toute la complexité du comportement des anophèles. Dans ces conditions, il est important de poursuivre les investigations afin de cerner l'étendue du comportement des anophèles et leurs implications pour la lutte antivectorielle.

## **2. Disponibilité des habitats larvaires et de ponte pour les anophèles pendant les saisons sèches de longue durée**

Les gîtes larvaires conventionnelles des moustiques ont totalement disparu dans les deux secteurs S+ et S++ que nous avons parcourus. La plupart des habitats larvaires retrouvés au cours de la longue période de sécheresse qui sévit dans la commune de Kandi, sont des gîtes inhabituels retrouvés dans les ménages. Ce sont les habitudes des populations au stockage de l'eau qui permettent d'assurer le maintien de la reproduction de certains vecteurs. En effet, les réserves d'eau constituées par les populations sont souvent traitées avec négligence et ne sont pas recouvertes. Ainsi, certains anophèles gravides en quête d'habitats de ponte vont se débarrasser de leurs œufs dans des gîtes non classiques, des « gîtes domestiques ». Parmi ces gîtes classiques, on y retrouve les jarres, les citernes et autres réceptacles des réserves d'eaux. D'autres types d'habitats larvaires comme les collections d'eaux polluées ont été identifiés au cours de la saison sèche de longue durée mais les récipients domestiques contenant les

réserves d'eaux ont été les plus nombreux. Selon Subra (1971), le choix d'un gîte de ponte par les anophèles dépend essentiellement des substances chimiques que renferme ce gîte et de sa structure. Et l'eau stockée dans les ménages est souvent destinée à la consommation, donc paraît plus adaptée à la ponte des anophèles que les collections d'eaux polluées. C'est pourquoi, les gîtes domestiques ont constitué 62% des gîtes identifiés pendant la saison sèche.

Pour réduire le risque lié au paludisme pendant la saison sèche, une lutte antivectorielle basée sur la destruction des gîtes péridomestiques peut être envisagée au niveau communautaire sur la base d'une simple sensibilisation de la population. Un contrôle rigoureux des habitats larvaires a été la clé de l'éradication du paludisme aux États-Unis, en Israël et en Italie (Kitron, 1992 ; Kitron & Spielman, 1989). La gestion appropriée des gîtes larvaires dans les pays d'Afrique subsaharienne, en particulier pendant les saisons sèches, peut aider à empêcher l'oviposition chez les anophèles gravides. Pour cela, on doit avoir une connaissance de la répartition spatiale et temporelle des gîtes larvaires. Malheureusement, la plupart des habitats larvaires d'anophèles ne sont pas permanents et leur recherche est très laborieuse (Minakawa *et al.*, 1999).

### **3. Niveau de transmission et situation parasito-clinique du paludisme dans les secteurs S+ et S++**

La densité des populations anophéliennes et le niveau de transmission du paludisme dans les différents dans la zone d'étude était fonction du degré d'aridité. Les sites du secteur le moins aride (S+) étaient plus prolifiques, ce qui laisse logiquement penser que ce secteur abrite plus de gîtes favorables au développement des anophèles contrairement au secteur S++.

Malgré la rareté des anophèles dans le secteur S++, on note une transmission résiduelle relativement importante (TIE = 5,5 piqûres infectantes / an). Dans ce secteur très aride, le TIE est nettement supérieur à ceux enregistrés dans certains écosystèmes climatiques plus humides du Bénin, comme dans la zone sanitaire Ouidah-Kpomassè-Tori au sud-ouest (Djènontin *et al.*, 2010), à Ossomou dans le département du Plateau au sud-ouest (Sovi *et al.*, 2013a). De même, la situation épidémiologique du paludisme apparaît plus préoccupante dans le secteur aride S++ que dans beaucoup d'autres localités en Afrique subsaharienne tels que Bobo-Dioulassou au Burkina Faso (Lochouarn & Gazin, 1993), Edéa au Cameroun (Robert *et al.*, 1993), Dassilami en Gambie (Thomson *et al.*, 1994), Dakar (à proximité du marais de Niaye)

au Sénégal (Trape *et al.*, 1992) où les TIE annuels sont inférieurs à ceux enregistrés à Kandi. Nous réalisons ainsi que la transmission du paludisme est un phénomène très complexe.

Malgré la très forte aridité notée dans le secteur S++, il y a toujours présence des vecteurs du paludisme ; lesquels vecteurs sont difficiles à mettre en évidence par nos techniques d'échantillonnage. Les captures de nuit sur appât humain et les captures par piège-fenêtre cumulées aux aspersions de bombes insecticides à effet rémanent ne seraient donc pas adaptées à l'échantillonnage des populations d'anophèles dans un contexte d'aridité. Le fait que les spécimens de vecteurs soient le plus souvent en cachette dans des refuges et qu'ils diminuent leur fréquence de repas sanguin pendant les sécheresses constituent des limites certaines des trois méthodes d'échantillonnage standards que nous avons utilisées pour la présente étude. Les pièges Ovitrap<sup>®</sup> qui sont des modèles de piège destinés à la capture des moustiques gravides en attente d'oviposition et utilisant soit des substances olfactives attractantes de diverses natures (Mackay *et al.*, 2013), soit des feuilles d'acétate revêtu de colle déposée à la surface des gîtes potentiels (Harris *et al.*, 2011), sont des possibilités sérieuses à exploiter pour les recherches dans les conditions d'aridité ou les saisons sèches de longue durée.

Au regard de la situation observée à Kandi, il est à souhaiter que des mesures urgentes de contrôle soient déployées pour abaisser le niveau de transmission dans la commune de Kandi. Le climat qui prévaut dans cette partie du Bénin est idéal à la mise en œuvre de deux stratégies de lutte antivectorielle. En prélude à la saison pluvieuse, la pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide pourrait être envisagée. Cela viserait à réduire considérablement la densité des anophèles vecteurs du paludisme mais nécessiterait forcément d'autres sacrifices pendant les périodes d'aridité. En effet, pendant la saison sèche, des actions communautaires d'aménagement de l'environnement et de destruction des gîtes potentiels de moustiques devront être déployées. Il faudrait aussi procéder à la sensibilisation des populations riveraines sur les techniques de conservation de leurs réserves d'eaux, afin qu'ils ne domestiquent plus les gîtes d'anophèles dans les ménages. D'autres activités de démoustication pourraient aussi être initiées pendant les périodes de sécheresse afin d'éliminer les populations d'anophèles résiduels à travers des aspersions de bombes aérosols dans les abris, cachettes et recoins pouvant potentiellement abriter les anophèles en diapause (estivation). Ces différentes stratégies déployées de façon intégrées devraient servir à contrôler efficacement le paludisme dans les régions de forte aridité comme celles de Kandi.

#### 4. Conclusion générale, limites et perspectives

La rétention des œufs au-delà du cycle gonotrophique chez *An. gambiae* n'a pas révélé un préjudice pour la fécondité des anophèles. Dans les conditions extrêmes d'aridité enregistrés à Kandi, particulièrement dans le secteur S++, la survie et la persistance de *An. gambiae*, principal vecteur du paludisme, est imputable à l'existence des gîtes de relais (gîtes inhabituels) qui maintiennent la reproduction des vecteurs paludisme. Et pourtant, la durée souvent très longue des saisons sèches pourrait laisser imaginer une entrave à la survie du vecteur et indirectement une accalmie dans la transmission du paludisme au cours de ces périodes particulièrement arides. Les efforts de recherches doivent être déployés pour cerner tous les contours de la survie du vecteur pendant qu'il est en estivation, et donc probablement plus vulnérable, pour initier des mesures hardies.

Les simulations effectuées n'ont pas pu aller au-delà des 40 jours. Il importe alors de les poursuivre car dans les conditions de terrain, la saison sèche dure plusieurs mois. Cela permettra d'approfondir les données que nous avons pu recueillir sur le comportement et le cycle de développement de *An. gambiae* dans les conditions d'absence de gîtes larvaires qui caractérisent les saisons sèches. Outre la rareté des gîtes que nous avons exploré en privant les femelles gravides en attente de pondoir, d'autres aspects de la saison sèche tels que les fortes températures et les faibles degrés d'humidité doivent être aussi pris en compte dans la recherche et la compréhension des mécanismes impliqués dans la survie des vecteurs aux conditions climatiques défavorables.

L'échantillonnage des moustiques sur le terrain n'a duré que 17 mois, soit l'équivalent de deux saisons pluvieuses intercalées par une saison sèche. Nous aurions aimé que la collecte s'opère sur au moins deux saisons sèches. Nous souhaiterons, pour l'avenir, reprendre les simulations avec des spécimens d'anophèles sauvages capturés dans les secteurs S+ et S++ en comparaison avec les données recueillies sur la souche de référence Kisumu. De plus, nous aimerions étudier la structure chromosomique des anophèles capturés dans les deux secteurs afin de vérifier s'il existe chez ces anophèles une différence chromosomique pouvant leur permettre de résister et de survivre pendant la saison sèche (Coluzzi *et al.*, 1979 ; Powell *et al.*, 1999). Cette perspective se justifie pleinement car il est important de comprendre quelles sont les bases de cette adaptation des anophèles aux environnements arides ainsi que les mécanismes génétiques sous-jacents, pour mener à bien la lutte antivectorielle.

Au cours de cette étude, nous aurions aimé étudier la prévalence du *P. falciparum* en utilisant la microscopie. En effet, pour le diagnostic de certitude du paludisme, il est recommandé la PCR et la microscopie (OMS, 2013 ; Townes *et al.*, 2013). A l’opposé, les TDR sont moins précis et seulement recommandés lorsque l’absence d’un plateau technique approprié rend impossible un diagnostic de certitude. Cependant, étant donné que notre étude recherchait une vue globale de la prévalence du paludisme et non la charge parasitaire des sujets de l’enquête, l’utilisation des TDR ne remet pas en cause la qualité scientifique de l’étude et l’interprétation des données ainsi recueillies.

Le paludisme est aujourd’hui un problème de préoccupation majeure, même dans les localités où l’aridité du climat pourrait laisser penser le contraire. Le besoin de recherche reste plus que jamais d’actualité pour initier des stratégies de lutte adaptées afin de diminuer le niveau de transmission du paludisme jusqu’à sa plus simple expression. Avec l’avènement des changements climatiques caractérisés par l’allongement des saisons sèches, les hausses de température et la rareté des précipitations, il devient urgent d’étudier les conséquences de ces changements et leur implication sur les méthodes de lutte antivectorielle.

## Références bibliographiques

1. Adamou A, Dao A, Timbine S, Kassogue Y, Yaro AS, Diallo M, Traore SF, Huestis DL, Lehmann T. The contribution of aestivating mosquitoes to the persistence of *Anopheles gambiae* in the Sahel. *Malar J*, 2011, 10, 151.
2. Adamou S. Etude de la capacité d'adaptation des anophèles en saison sèche aride dans la région de Niamey au Niger. Mémoire MIE, Cotonou, 2007.
3. Aïkpon, R., Ossè, R., Govoetchan, R., Sovi, A., Oké-Agbo, F., & Akogbéto, M. C. (). Entomological baseline data on malaria transmission and susceptibility of *Anopheles gambiae* to insecticides in preparation for Indoor Residual Spraying (IRS) in Atacora (Benin). *Journal of Parasitology*, 2013, 5(7), 102-111.
4. Akogbeto M., Padonou G, Gbénou D., Irish S., Yadouleton A. Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* in Benin, West Africa. *Malar J*, 2010, 9, 204.
5. Alles H. K., Mendis K. N. et Carter R. Malaria mortality rates in South Asia and in Africa: implications for control. *Parasitol Today*, 1998, 14, 369-375.
6. Alto B. W., Juliano S. A. Temperature effects on the dynamics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations in the laboratory. *J. Med. Entomol.*, 2001, 38, 548-556.
7. Amalraj D.D., Sivagnaname N., Das P.K. (). Effect of food on immature development, consumption rate, and relative growth rate of *Toxorhynchites splendens* (Diptera: Culicidae), a predator of container breeding mosquitoes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2005, 100, 893.
8. Antonio-Nkondjio C., Simard F., Cohuet A., Fontenille D. Morphological variability in the malaria vector, *Anopheles moucheti*, is not indicative of speciation: evidences from sympatric south Cameroon populations. *Infect Genet Evol*, 2002, 2, 69-72.

9. Armstrong J., Bransbay-William W. R. The maintenance of a colony of *Anopheles gambiae*, with observations on the effects of changes in temperature. *Bull OMS*, 1961, 24, 427-435.
10. Bart G., Knols J. Odor-mediated behavior of afrotropical malaria mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 1999, 44, 131-157.
11. Bar-Zeev M., Self L. S. A note on the use of window traps as a tool for evaluating insecticides. *Mosq News*, 1966, 26, 205–7.
12. Bates M. The natural history of mosquitoes. New York, The Mac Millan Co, 1949, 379 p.
13. Beier JC. Frequent blood-feeding and restrictive sugar-feeding behavior enhance the malaria vector potential of *Anopheles gambiae s.l.* and *A. funestus* (Diptera: Culicidae) in western Kenya. *Journal of Medical Entomology*. 1996, 33, 613–618.
14. Beklemishev W.N. Le cycle gonotrophique, principe de base de la biologie & Anopheles. *Vop. Fiziol. Ekol Malar*, 1940, 1, 3.
15. Benoit J. B., Denlinger D. L. Meeting the challenges of on-host and off-host water balance in blood-feeding arthropods. *Journal of insect physiology*, 2010, 56(10), 1366-1376.
16. Benoit J. B., Lopez-Martinez G., Patrick K. R., Phillips Z. P., Krause T. B., Denlinger, D. L. Drinking a hot blood meal elicits a protective heat shock response in mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(19), 8026-8029.
17. Besansky N, Hill C, Costantini C. No accounting for taste: host preference in malaria vectors. *Trends in parasitology*, 2004, 20(6), 249–251.
18. Billingsley P. F., Baird J., Mitchell J. A., Drakeley C. Immune interactions between mosquitoes and their hosts. *Parasite Immunol*, 2006, 28(4), 143-53.

19. Boëte C. Malaria parasites in mosquitoes: laboratory models, evolutionary temptation and the real world. *Trends Parasitol.* 2005, 21, 445–447
20. Bøgh C., Lindsay S. W., Clarke S. E., Dean A., Jawara M., Pinder M., Thomas C.J. High spatial resolution mapping of malaria transmission risk in the Gambia, west Africa, using LANDSAT TM satellite imagery. *Am J Trop Med Hyg*, 2007, 76, 875-881.
21. Brengues et Coz. Quelques aspects fondamentaux de la biologie d'*Anopheles gambiae* Giles, (Sp.A) d'*Anopheles funestus* Giles, en zone de savane d'Afrique de l'ouest. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Enr. méd. Parasitol.*, 1973vol. XI, no 2; 107-126.
22. Bruce-Chwatt L. From Laveran's discovery to probes: new trends in diagnosis of malaria. *Lancet*, 1987, 2, 1509-1511.
23. Brun L.O. Contribution à l'étude biologique et écologique des vecteurs majeurs de paludisme en Afrique de l'Ouest. Thèse Doct.-ing. Rennes, 1973, 36, 223 pp.
24. Carnevale P., Bosseno M.F., Molinier, Lancien J., Le Pont F., Zoulani A. Etude du cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) en zone de forêt dégradée d'Afrique Centrale, 1979, 55-75.
25. Carvalho S.C., Martins Junior A., Lima J.B., Valle D. Temperature influence on embryonic development of *Anopheles albitarsis* and *Anopheles aquasalis*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2002, 97, 1117-1120.
26. Chabasse D. Parasitologie mycologie, *Saint-Maur, ANOFEL*, 7<sup>ème</sup> édition, 2002, 107 pp.
27. Charlwood JD, Vij R, Billingsley PF. Dry season refugia of malaria-transmitting mosquitoes in a dry savannah zone of east Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 2000, 62, 726–732.

28. Choumara R., Ramon J., Adam J. P., Ricossé J., Bailly H. : Le paludisme dans la zone pilote de Bobodioulasso. *Cah. ORSTOM*, 1959, 1.
29. Cleenewerck M. B. et FRIMAT P (ed.). *Progrès en dermato-allergologie: Lille 2004*. John Libbey Eurotext, 2004.
30. Clements A. N. *Biology of Mosquitoes : Development, Nutrition And Reproduction* London: Chapman & Hall, 1992.
31. Coetzee M., Craig M., Le Sueur D. Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the *Anopheles gambiae* complex. *Parasitol Today*, 2000, 16, 74 - 77.
32. Cohuet A., Krishnakumar S., Simard F., Morlais I., Koutsos A., Fontenille D., Mindrinos M., Kafatos F.C. SNP discovery and molecular evolution in *Anopheles gambiae*, with special emphasis on innate immune system. *BMC Genomics*, 2008, **9**, 227.
33. Cohuet A., Osta M.A., Morlais I., Awono-Ambene P.H., Michel K., Simard F., Christophides G.K., Fontenille D., Kafatos F.C. *Anopheles* and *Plasmodium*: from laboratory models to natural systems in the field. *EMBO* 2006, 7, 1285–1289.
34. Collins F., Paskewitz S. Malaria: current and future prospects for control. *Annu Rev Entomol*, 1995, 40, 195-219.
35. Collins F.H., Mendez M. A. Rasmussen MO, Mehaffey PC, Besansky NJ, Finnerty V, 1987. A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of *Anopheles gambiae* complex. *Am J Trop Med Hyg*, 37: 37–41.
36. Coluzzi M., Sabatini A., Petrarca V., Di Deco M.A. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1979, 73, 483-497.

37. Coluzzi M., Sabatini A. et al. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1979, 73(5), 483-497.
38. Coluzzi R. A revised version of the ILLSS Catalogue. Bulletin d'Information du Centre de Donnees Stellaires, 1993, 43, 7.
39. Cork, A. et Park, K.C. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extracts. *Med. Vet. Entomol.*, 1996, 10, 269-276.
40. Covell G., Russell P.F. et Swellengrebel N.H. Malaria Terminology. *Wld. Hlth. Org. Monogr.*, 1953, 13, 82 pp.
41. Cox J., Craig M. H., Le Sueur D. Mapping malaria risk in the highlands of Africa. In *MARA/HIMAL*, Technical Report. ; 1999.
42. Craig G. B. Mosquitoes: female monogamy induced by male accessory gland substance. *Science*, 1967, 156, 1499-1501.
43. Danks H. V. The elements of seasonal adaptations in insects. *The Canadian Entomologist*, 2007, 139(01), 1-44.
44. della Torre A., Fanello C., Akogbeto M., Dossou-yovo J., Favia G., Petrarca V., Coluzzi M. Molecular evidence of incipient speciation within *Anopheles gambiae* s.s. in West Africa. *Insect Mol Biol* 2001, 10, 9 - 18.
45. Detinova T.S. Méthode à appliquer pour classer par groupe d'âge les diptères présentant une importance médicale. *Org Mond Santé Sér Mono*, 1963, 47.
46. Dia I., Diop T., Rakotoarivony I., Kengne P., Fontenille D. Bionomics of *Anopheles gambiae* Giles, *An. arabiensis* Patton, *An. funestus* Giles and *An. nili* (Theobald) (Diptera: Culicidae) and transmission of *Plasmodium falciparum* in a Sudano-Guinean zone (Ngari, Senegal). *J Med Entomol* 2003, 40, 279-283.

47. Diatta M., Spiegel A., Lochouart L., Fontenille D. Similar feeding preferences of *Anopheles gambiae* and *A. arabiensis* in Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1998, 92(3), 270-2.
48. Dieter L., Huestis L., Lehmann T. The effects of oviposition-site deprivation on *Anopheles gambiae* reproduction. *Parasites & Vectors*, 2012, 5, 235.
49. Djènontin A., Bio-Bangana S., Moiroux N., Henry M. C., Bousari O., Chabi J., Chandre F. Culicidae diversity, malaria transmission and insecticide resistance alleles in malaria vectors in Ouidah-Kpomasse-Tori district from Benin (West Africa): A pre-intervention study. *Parasit Vectors*, 2010, 3, 83.
50. Donnelly M. J., Townson H. Evidence for extensive genetic differentiation among populations of the malaria vector, *Anopheles arabiensis* in East Africa. *Insect Mol. Biol*, 2000, 9, 357-367.
51. Donnelly MJ, Simard F, Lehmann T. Evolutionary studies of malaria vectors. *Trends Parasitol*, 2002, 18, 75 – 80.
52. Eldin de Pécoulas P., Basco L. K., Tahar R., *et al.* Analysis of the *Plasmodium vivax* dihydrofolate reductase–thymidylate synthase gene sequence. *Gene*, 1998, vol. 211, no 1, p. 177-185.
53. Escalante A, Ayala F. Phylogeny of the malarial genus *Plasmodium*, derived from rRNA gene sequences. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91(24), 11373-7.
54. Fahrenhorst M., Bart G. J. Knols, Matthew B. Thomas, Annabel F. V. Howard, Takken W., Rowland M., N'Guessan R. Synergy in Efficacy of Fungal Entomopathogens and Permethrin against West African Insecticide-Resistant *Anopheles gambiae* Mosquitoes. *Plos one*, 2010, 5(8), e12081.
55. Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Siden Kiamos I., Louis C. Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol*, 2001, 10, 19-23.

56. Favia G., Dimopoulos G., della Torre A., Toure Y. T., Coluzzi M., Louis C. Polymorphisms detected by random PCR distinguish between different chromosomal forms of *Anopheles gambiae*. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91, 10315–10319.
57. Favia G., Torre A. d., Bagayoko M., Lanfrancotti A., Sagnon N. F., Toure Y. T., Coluzzi M., Della Torre A. Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their reproductive isolation. *Insect Mol Biol*, 1997, 6, 377-383.
58. Faye O., Fontenille D., Gaye O., Sy N., Molez J. F. Malaria and rice growing in the Senegal River delta (Senegal). *Ann Soc Belg Med Trop*, 1995, 75(3), 179-89.
59. Faye O., Konate L., Mouchet J., Fontenille D., Sy N., Hébrard G., Herve J. P. Indoor resting by outdoor biting females of *Anopheles gambiae* complex (Diptera: Culicidae) in the sahel of northern Senegal. *Journal of medical entomology*, 1997, 34(3), 285-289.
60. Fernandes L., Briegel H. Reproductive physiology of *Anopheles gambiae* and *Anopheles atroparvus*. *Journal of Vector Ecology*. 2004, 30, 11–26.
61. Fontenille D., Campbell G. H. Is *Anopheles mascarensis* a new malaria vector in Madagascar? *Am J Trop Med Hyg*, 1992, 46, 28-30.
62. Fontenille D., Cohuet A., Awono-Ambene P.H., Antonio-Nkondjio C., Wondji C., Kengne P., Dia I., Boccolini D., Duchemin J-B., Rajaonarivelo V., Dabire R., Adja-Akre M., Ceainu C., Le Goff G., Simard F. Systématique et biologie des anophèles vecteurs de plasmodium en Afrique, données recentes. *Med Trop*, 2003, 63, 247-253
63. Fontenille, D., Lochouarn, L., Diatta, M., Sokhna, C., Dia, I., Diagne, N., Trape, J. F. Four years' entomological study of the transmission of seasonal malaria in Senegal and the bionomics of *Anopheles gambiae* and *A. arabiensis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1997, 91(6), 647-652.

64. Foster W. A. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Ann Rev Entomol*, 1995, 40: 443-474.
65. Foster WA. Colonisation and maintenance of mosquitoes in the laboratory. In : Malaria. (J.P. KREIR Ed.), Academic Press New York. USA, (Vol. 2) 1980, pp.103-151.
66. Gardiner C., Biggar R. J., Collins W. E., Nkrumah F. K. Malaria in urban and rural areas of southern Ghana: a survey of parasitaemia, antibodies, and antimalarial practices. *Bull World Health Organ* 1984, **62**(4):607–613.
67. Garnham P. Malaria parasites and other haemosporidia, *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, 1996.
68. Gary R. E., Foster W.A. Effects of available sugar on the reproductive fitness and vectorial capacity of the malaria vector *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 2001, 38, 22-28.
69. Gentile G., Slotman M., Ketmaier V., Powell J. R., Caccone A. Attempts to molecularly distinguish cryptic taxa in *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol*, 2001,10, 25-32.
70. Germain M., Hervé J.P. et Geoffroy B. Evaluation de la durée du cycle gonotrophique de *Aedes africanus* (Theobald) vecteur potentiel de fièvre jaune dans une galerie forestière du Sud de la République Centrafricaine. *Cah. O.R.S.T.O.M., ser Ettl. Méd: et Parasitol.*, 1974 vol. XII, no 2 : 127-134.
71. Gillies M. T. et De Meillon B. The Anophelinae of Africa South of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region). *Publ. South Afr. Inst. Med. Res.*, 1968, 54, 343 pp.
72. Gillies M. T., Coetzee M. Supplement to the *Anophelinae* of Africa South of the Sahara. South Africa. *South African Institute of Medical Research Johannesburg*, 1987, 55.

73. Gillies M.T. Studies on the dispersion and survival of *Anopheles gambiae* Giles in East Africa, by means of marking and release experiments. *Bull. ent. Res.*, 1961, 52(1), 99-127.
74. Gillies M.T. The duration of the gonotrophic cycle in *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*, with a note on the efficiency of hand catching. *East Afr. Med. J.*, 1953, 30, 4, 129-135.
75. Govoetchan R., Gnanguenon V., Azondékon R., Fiacre Agossa R., Sovi R., Oké-Agbo F., Ossè R., Akogbéto M. Evidence for perennial malaria in rural and urban areas under the Sudanian climate of Kandi, Northeastern Benin. *Parasites & Vectors*, 2014, 7,79.
76. Govoetchan R., Sovi A., Aïkpon A., Salako A., Oké Agbo F., Asidi A., Akogbéto A. The impact of oviposition-site deprivation in gravid females of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) on fecundity, trophic behaviour and life expectancy. *Int J Trop Ins Sc* 2013, 33(4), 207–215.
77. Haddow A.J. et Ssenkubuge Y. Laboratory observations on the oviposition cycle in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1962, 56, 352-355.
78. Hamon J. Étude de l'âge physiologique des femelles d'anophèles dans les zones traitées au D.D.T., et non traitées, de la région de Bobo-Dioulasso. Haute-Volta. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1963, 28, 83-109.
79. Hance P, Garnotel J. J., de Pina S., Vedy c. ragot. Tests immunochromatographiques rapides de détection du paludisme, principes et stratégies d'utilisation. *Med Trop* 2005, 65, 389-393.
80. Harris C., Kihonda J., Lwetoijera D., Dongus S., Devine G., Majambere S. (). A simple and efficient tool for trapping gravid *Anopheles* at breeding sites. *International Pest Control*, 2011, 53(4), 204.

81. Hay S.I., Guerra C.A., Tatem A.J., Atkinson P. M., Snow R.W. Tropical infectious diseases: urbanization, malaria transmission and disease burden in Africa. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3, 81–90.
82. Hocking K.S et Mc INNES D.G. Notes on the bionomics of *Anopheles gambiae* and *Anopheles flmestus* in East Africa. *Bull. ent. Res.*, 1948, 39, 453-465.
83. Holstein M. H. Biology of *Anopheles gambiae*. Research in French West Africa. Geneva. *World Health Organization*, 1954, 9, 172 p.
84. Holstein M. H. Guide pratique de l'anophelisme en Afrique de l'Ouest française (A.O.F). Service Général d'hygiène Mobile et de Prophylaxie, Dakar, 1949, pp.54.
85. Hunt R. H., Coetzee M., Fettene M. The *Anopheles gambiae* complex: a new species from Ethiopia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1998, 92, 231-235.
86. Julvez J., Ragavoodaa C., Gopaul A.R., Mouchet J. Maladies humaines transmises par les culicidés dans les îles du sud-ouest de l'Océan Indien. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 1998, 91, 88-103.
87. Kazembe L. N., Kleinschmidt I., Holtz T.H. Spatial analysis and mapping of malaria risk in Malawi using point-referenced prevalence of infection data. *Int J Health Geograph*, 2006, 5, 41.
88. Kitron U, Spielman A. Suppression of transmission of malaria through source reduction: antianopheline measures applied in Israel, the United States, and Italy. *Rev Infect Dis*, 1989, 11, 391–406.
89. Kitron U. Spatial analysis of the distribution of *Ixodesdammini* (Acari: Ixodidae) on white-tailed deer in Ogle County, Illinois. *Journal of medical entomology*, 1992, 29, 259-266.

90. Klowden M.J., Blackmer J. L. Chambers G.M. Effects of larval nutrition on the host-seeking behavior of adult *Aedes aegypti* mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1988, 4, 73-75.
91. Knols, B. G. J. et De Jong R. Limburger cheese as an attractant for the malaria mosquito *Anopheles gambiae* ss. *Parasitology today*, 1996, vol. 12, no 4, p. 159-161.
92. Kulkarni S. G. et Panda S. P. On synergistic ignition of 3-carene blended with cardanol with red fuming nitric acid (RFNA) as oxidizer. *Combustion and flame*, 1984, vol. 56, no 2, p. 241-244.
93. Lang J. T. Relationship of fecundity to the nutritional quality of larval and adult diets of *Wyeomyia smithii*. *Mosq. News*, 1978, 38, 396-403.
94. Laventure S, Mouchet J, Blanchy S, Marrama L, Rabarison P, Andrianaiholainaina L, Rajaonarivelo E, Rakotoarivony I, Roux J. Le riz, source de mort de de vie dans les plateau du Madagascar. *Cahier Santé*, 1996, 6, 79-86.
95. Le Berre R. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mém. O.R.S.T.O.M.*, 1966, 17, 204 p.
96. Lehmann T, Dao A, Yaro AS, Adamou A, Kassogue Y, Diallo M, Sekou T, Coscaron-Arias C. Aestivation of the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae* in the Sahel. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2010, 83, 601-606.
97. Lochouart L., Gazin P. La transmission du paludisme dans la ville de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Ann Soc Belg Med Trop*, 1993, 73, 287-290.
98. Lumsden W.H. Probable vectors of yellow fever virus, from monkey to man, in Bwamba County, Uganda. *Bull. ent. Res.*, 1951, 42, 317-330.
99. Mackay A. J., Amador M., Barrera R. An improved autocidal gravid ovitrap for the control and surveillance of *Aedes aegypti*. *Parasites & vectors*, 2013, 6(1), 225.

100. Malvy D., Djossou F., Thiebaut R. Plasmodies-Malaria. Formes cliniques et diagnostic dans Encyclopédie médico-chirurgicale. Paris, *Elsevia*, 2000, 8, 507.
101. Martinez Torres D., Chandre F., Williamson M. S., Darriet, F, Berge JB, Devonshire A L, Guillet P., Pasteur N., Pauron D. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in major malaria vector *An. gambiae s.s.* *Insect Mol Bio*, 1998, 7, 179-184.
102. Mathenge, E. M., Misiani, G. O., Oulo, D. O., Irungu, L. W., Ndegwa, P. N., Smith, T. A., ... & Knols, B. G. Comparative performance of the Mbita trap, CDC light trap and the human landing catch in the sampling of *Anopheles arabiensis*, *An. funestus* and culicine species in a rice irrigation in western Kenya. *Malaria journal*, 2005, 4(1), 7.
103. Melkkanovitskaya S., Koloxloval A.: Characteristics of petroleum content determinations in ground waters, *Gidrokhim. Mater*, 1980, 77, 101.
104. Minakawa N, Githure J, Beier J, Yan G. Anopheline mosquito survival strategies during the dry period in western Kenya . *J Med Entomol*, 2001, 38, 388 – 392.
105. Minakawa N., Mutero C. M., Githure J. I., Beier J. C., Yan G. Spatial distribution and habitat characterization of anopheline mosquito larvae in Western Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1999, 61(6), 1010–1016.
106. Ministère de la Santé de la République du Bénin. Annuaire des statistiques sanitaires SNIGS/DPP/MS, 2013, 267pp.
107. Mouchet J., Carnevale P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Richard-Lenoble D., Sircoulon J. Biodiversité du paludisme dans le monde. (Eds) John Libbey Eutotext, 2004, 428pp.
108. Muirhead-Thomson R. C. Studies on *Anopheles gambiae* and *A. melas* in and around Lagos. *Bull. ent. Res.*, 1948, 38, 527-558.

109. Muirhead-thomson R.C. Studies on *Anopheles gambiae* and *Anopheles melas* in and around Lagos. *Bull. ent. Res.* 1948, 38: 527-558.
110. Omer S.M. et Cloudsley-Thompson J.L. Survival of female *An. gambiae* Giles through a 9-month dry season in Sudan. *Bull World Health Organ* 1970, 42(2), 319-30.
111. Permin A., Madsen M. Investing in Animal Health Research to Alleviate Poverty. *International Livestock Research Institute*, Nairobi, 2001,
112. Pock Tsy J.-M., Duchemin J.B., Marrama L., Rabarison P., Le Goff G., Rajaonarivelo V., Robert V. Distribution of the species of the *Anopheles gambiae* complex and first evidence of *Anopheles merus* as a malaria vector in Madagascar. *Mal J*, 2003, 2, 33.
113. Powell J., Petrarca V. et al. Population structure, speciation and introgression in the *Anopheles gambiae* complex. *Parassitologia*, 1999, 41, 101-113.
114. R Core Team R. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2012. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
115. Rajagopalan PK et al. Environmental and water management for mosquito control. In: Curtis CF, ed. *Control of disease vectors in the community*. London, Wolfe, 1991: 121-138.
116. Robert V. et Trape J. F. Lutter contre le paludisme en réduisant sa transmission? Présentation de la controverse. *Médecine/sciences*, 1997, 13, 678-682.
117. Robert V., Carnevale P. Les vecteurs du Paludisme en Afrique sub-saharienne. *Etudes Médicales*, 1984, 79-90.

118. Robert V., le Goff G., Toto J-C., Mulder L., Fondjo E., Manga L., Carnevale P. Anthropophilic mosquitos and malaria transmission at Edea, Cameroon. *Trop Med and Parasitol* 1993, 44, 14.
119. Rodhain F., Perez. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloinés.a, 1985, 458 pages.
120. Rogers D. J., Randolph S. E., Snow R. W., Hay, S. I. Satellite imagery in the study and forecast of malaria. *Nature*, 2002, 415 (6872), 710-715.
121. Sattler MA, Mtasiwa D, Kiama M, et al. Habitat characterization and spatial distribution of *Anopheles sp* mosquito larvae in Dar es Salaam (Tanzania) during an extended dry period. *Malaria J*, 2005, 4: 4.
122. Scott J. A., Brogdon W. G., Collins F.H. Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg*, 1993, 49, 520–529.
123. Simard F, Lehmann T, Lemasson J, Diatta M, Fontenille D. Persistence of *Anopheles arabiensis* during the severe dry season conditions in Senegal: an indirect approach using microsatellite loci. *Insect Mol Biol*, 2000, 9, 467 – 479.
124. Sinka M. E., Bangs M. J., Manguin S., Yasmin Rubio-Palis Y., Chareonviriyaphap T., Coetzee, Mbogo C. M., Hemingway J., Patil A. P., Temperley W. H., Gething P. W., Kabaria C. W., Burkot T. R., Harbach R. E., Hay S. I. A global map of dominant malaria vectors. *Parasites & Vectors*, 2012, 5:69
125. Sovi A., Azondékon R., Aikpon R., Govoetchan R., Tokponnon F., Agossa F., Akogbéto M. Impact of operational effectiveness of long-lasting insecticidal nets (LLINs) on malaria transmission in pyrethroid-resistant areas. *Parasit Vectors*, 2013, 6, 319.
126. Su X., Hayton K., Wellems T. E. Genetic linkage and association analyses for trait mapping in *Plasmodium falciparum*. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8, 497–506.

127. Subra R.I. Études écologiques sur *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828 (Diptera : Culicidae) dans une zone urbaine de savane soudanienne Ouest Africaine. Longévité et déplacements d'adultes marqués avec des poudres fluorescentes. *Cah. O.R.S.T.O.M., ser, Ent. Méd. et Parasitol.*, 1972, vol. X, no 1 : 3-36.
128. Takken W, Klowden MJ, Chambers GM. Effect of body size on host seeking and blood meal utilization in *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae): the disadvantage of being small. *Journal of Medical Entomology*. 1998, 35, 639–645.
129. Tanser FC, Sharp B, le Sueur D. Potential effect of climate change on malaria transmission in Africa. *Lancet*, 2003, 362(9398), 1792–8.
130. Taylor C., Toure Y., Coluzzi M., Petrarca V. Effective population size and persistence of *Anopheles arabiensis* during the dry season in West Africa. *Med Vet Entomol*, 1993, 7, 351 – 357.
131. Thomson M. C., D'Alessandro U., Bennett S., Connor S. J., Langerock P., Jawara M., Todd J., Greenwood B.M. Malaria prevalence is inversely related to vector density in The Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994, 88, 638–643.
132. Touré Y.T., Petrarca V., Traoré S.F., Coulibary A., Maiga H.M., Sankaré O., Sow M., Di Deco M.A., Coluzzi M. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parassitologia*, 1998, 40, 477 – 511.
133. Townes L. R., Mwandama D., Mathanga D. Elevated dry-season malaria prevalence associated with fine-scale spatial patterns of environmental risk: a case–control study of children in rural Malawi. *Malar J*, 2013, 12, 407.
134. Trape J. F. Contre : Les limites des moustiquaires imprégnées dans la lutte contre le paludisme en Afrique tropicale. *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, 94(2), 174–179.

135. Trape J. F. et Rogier C. Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitol Today*, 1996, 12 , 236 – 240.
136. Trape J. F. et Zoulani A. Malaria and urbanization in Central Africa: the example of Brazzaville. II. Results of entomological surveys and epidemiological analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1987, 81 (2), 10-18.
137. Trape J. F. et Zoulani A. Malaria and urbanization in Central Africa: the example of Brazzaville. Relationships between urbanization and the intensity of malaria transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1987, 81 (2), 19-25.
138. Trape J. F., Lefebvre-Zante E., Legros F., Ndiaye G., Bouganali H., Druilhe P., Salem G. Vector density gradients and the epidemiology of urban malaria in Dakar, Senegal. *Am J Trop Hyg* 1992, 47, 181–189.
139. Trape JF. Malaria and urbanization in central Africa: the example of Brazzaville. Part IV, Parasitological and serological surveys in urban and surrounding rural areas. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1987, 81(2), 26–33.
140. Vinogradova, E. B. Experimental Investigation of the ecological factors causing diapause of the adults of blood-sucking mosquitos (Diptera, Culicidae). *Entomologicheskoe obozrenie*, 1960, 39(2), 327-340.
141. Washino, R. K. The physiological ecology of gonotrophic dissociation and related phenomena in mosquitoes. *Journal of medical entomology*, 1977, 13, 4-5.
142. Watts T.E., Wray J. R., Ng'andu N. H., Draper C.C. Malaria in an urban and a rural area of Zambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1990, 84(2),196–200.
143. Weill M., Malcolm C., Chandre F., Mogensen K., berthomieu A., Marquine M., Raymond, M. The unique mutation in *Ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Mol. Biol.*, 2004,13, 1-7.
144. White G. B. Biological effects of intraspecific chromosomal polymorphism in malaria vector populations. *Bull World Health Organ*, 1974, 50, 299-306.

145. WHO (2013): World Malaria Report 2012. World Health Organization, Geneva 2013.
146. WHO (2011): World Malaria Report 2011. *World Health Organization*, Geneva, 2011.
147. WHO (2004): Framework for Developing, Implementing and Updating National Antimalarial Treatment Policy. A Guide for Country Malaria Control Programs. AFR/MAL/03.02. Brazzaville 2004.
148. Wondji C., Simard F., Fontenille D. Evidence for genetic differentiation between the molecular forms M and S within the Forest chromosomal form of *Anopheles gambiae* in an area of sympatry. *Insect Mol Biol*, 2002,11, 11-19.
149. Yaro A. S., Dao A., Adamou A., Crawford J. E., Ribeiro J. M., Gwadz R., Traore S. F., Lehmann T. The distribution of hatching time in *Anopheles gambiae*. *Malar J.*, 2006, 5-19.
150. Yaro A., Adamou A., Crawford J. E, Traoré S. F., Touré A. M., Gwadz R. & Lehmann T. Reproductive of female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Comparaison of Molecular Forms. *Journal of Medical Entomology* 2006, 43, Issue 5, pp. 833–839.
151. Yaro A., Traoré A., Huestis D., Adamou A., Timbiné S., Kassogué Y., Diallo M., Dao A., Traoré S., Lehmann T. Dry season reproductive depression of *Anopheles gambiae* in the Sahel. *J. Insect Physiol.*, 2012, 58(8), 1050-9.