

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

Université des Sciences, des Techniques et  
Des Technologies de Bamako (USTTB)



FACULTE DE PHARMACIE



Année universitaire : 2025-2026

N°.../

## TITRE

**Caractérisation des traits d'histoire de vie d'une colonie  
de moustiques génétiquement modifiés Ac(DSM)2  
mâles stériles en condition de laboratoire au Mali**

Thèse

Présentée et soutenue publiquement le .../ .... /.... devant le jury de

la faculté de la pharmacie

Par : **Mlle SISSOKO Madjoujou**

**Pour l'obtention du grade de Docteur en pharmacie**

**(Diplôme d'Etat)**

**Président :** M. Sekou Fantamady TRAORE, *Professeur honoraire*

**Membres :** M. Cheick Amadou COULIBALY, *Maitre de Recherche*

**Membres :** M. Lakamy SYLLA , *chercheur IDMERTC*

**Co-Directeur:** M. Sidy DOUMBIA, *attaché de recherche*

**Directeur :** M. Mahamadou DIAKITE, *Professeur*

Ce travail a été effectué au laboratoire transgénique de IDMERTC (Infectious Diseases and Medical Entomology Research and Training Center) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako dans le cadre des activités du projet Target Malaria Mali. Le laboratoire transgénique est seul responsable du contenu de ce document.



## FACULTE DE PHARMACIE



### LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2024-2025

#### ADMINISTRATION

Doyen : Sékou BAH, Professeur

Vice-doyen : Souleymane DAMA, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

#### PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Abdoulaye	DABO	Malacologie -Biologie animale
5	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
6	Mouctar	DIALLO	Parasitologie-mycologie
7	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
8	Amagana	DOLO	Parasitologie
9	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie humaine
10	Lassana	DOUMBIA	Chimie minérale
11	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
12	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
13	Akory Ag	IKNANE	Santé publique/Nutrition
14	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
15	Alou A.	KEÏTA	Galénique
16	Ousmane	KOÏTA	Biologie moléculaire
17	Mamadou	KONE	Physiologie
18	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
19	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique/Bromatologie
20	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
21	Saïbou	MAÏGA	Législation
22	Ababacar I	MAÏGA	Toxicologie
23	Ousmane	TOURE	Santé publique/ Environnementale
24	Mahamadou	TRAORE	Génétique
25	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

**PROFESSEURS DECEDES**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
4	Moussa	HARAMA	Chimie analytique
6	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
5	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
6	Moussa	SANOGO	Gestion pharmaceutique

**DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES****1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Professeur	Hématologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Professeur	Immunologie-Génétique
3	Alassane	DICKO	Professeur	Santé Publique
4	Abdoulaye	DJIMDE	Professeur	Parasitologie-Mycologie
5	Aldjouma	GUINDO	Professeur	Hématologie. Chef de DER
6	Kassoum	KAYENTAO	Directeur de Recherche	Santé publ./ Bio-statistique
7	Bourèma	KOURIBA	Professeur	Immunologie
8	Issiaka	SAGARA	Directeur de Recherche	Bio-statistique
9	Boubacar	TRAORE	Professeur	Parasitologie-Mycologie

**2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Maître de Conférences	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Maître de Conférences	Immunologie
3	Cheick Amadou	COULIBALY	Maître de Recherche	Entomologie/parasitologie
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Maître de Conférences	Biochimie clinique
5	Djénéba Koumba	DABITAO	Maître de Conférences	Biologie moléculaire
6	Souleymane	DAMA	Maître de Conférences	Parasitologie -Mycologie
7	Antoine	DARA	Maître de Conférences	Biologie Moléculaire
8	Laurent	DEMBELE	Maître de Conférences	Biotechnologie Microbienne
9	Kléligui Casimir	DEMBELE	Maître de Conférences	Biochimie Clinique
10	Seïdina S. A.	DIAKITE	Maître de Conférences	Immunologie
11	Fatou	DIAWARA	Maître de Conférences	Epidémiologie
12	Yaya	GOÏTA	Maître de Conférences	Biochimie Clinique
13	Ibréhima	GUINDO	Maître de Conférences	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Maître de Conférences	Biologie moléculaire
15	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Maître de Recherche	Bactériologie-Virologie
16	Mamoudou	MAÏGA	Maître de Conférences	Microbiologie
17	Amadou Birama	NIANGALY	Maître de Conférences	Parasitologie-Mycologie
18	Dinkorma	OUOLOGUEM	Maître de Conférences	Biologie Cellulaire
19	Fanta	SANGHO	Maître de Conférences	Santé Publ/Santé commun.
20	Yéya dit Sadio	SARRO	Maître de Conférences	Epidémiologie
21	Mahamadou S.	SISSOKO	Maître de Recherche	Bio-statistique

**3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Maître-Assistant	Biologie clinique
2	Djénéba	COULIBALY	Maître-Assistant	Nutrition/Diététique
3	Seydou Sassou	COULIBALY	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
4	Dramane	DIALLO	Maître-Assistant	Biologie Moléculaire
5	Issa	DIARRA	Chargé de Recherch.	Immunologie

#### 4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Michel Emmanuel	COULIBALY	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
2	Abdallah Amadou	DIALLO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
3	Bakary	FOFANA	Attaché de Recherche	Recherche clinique
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Assistant	Immunologie
5	Moussa Bamba	KANOUTE	Attaché de Recherche	Bio-informatique
6	Falaye	KEÏTA	Attaché de Recherche	Santé publi./Santé Environn.
7	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Assistant	Nutrition
8	Oumou	NIARE	Attaché de Recherche	Biologie appliquée
9	Zana Lamissa	SANOGO	Attaché de Recherche	Entomologie-Parasitologie
11	Lamine	SOUMAORO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
12	Aliou	TRAORE	Attaché de Recherche	Sciences biologiques appliqué.
13	Djakaridia	TRAORE	Assistant	Hématologie

#### DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

##### 1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Professeur	Pharmacognosie

##### 2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Maître de Conférences	Pharmacie hospitalière
2	Issa	COULIBALY	Maître de Conférences	Gestion
3	Adama	DENOUE	Maître de Conférences	Pharmacognosie/Chef de DER
4	Mahamane	HAÏDARA	Maître de Conférences	Pharmacognosie
5	Adiaratou	TOGOLA	Maître de Conférences	Pharmacognosie

##### 3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Bakary Moussa	CISSE	Maître-Assistant	Galénique
2	Balla Fatogoma	COULIBALY	Maître-Assistant	Pharmacie hospitalière
3	Sékou	DOUMBIA	Maître-Assistant	Pharmacognosie
4	Hamma Boubacar	MAÏGA	Maître-Assistant	Galénique
5	Aboubacar	SANGHO	Maître-Assistant	Législation
6	Aminata Tiéba	TRAORE	Maître-Assistante	Pharmacie hospitalière

#### 4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Assistant	Gestion pharmaceutique
2	Assitan	KALOGA	Assistant	Législation
3	Ahmed	MAÏGA	Assistant	Législation
4	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Assistant	Galénique
5	Bourama	TRAORE	Assistant	Législation
6	Sylvestre	TRAORE	Assistant	Gestion pharmaceutique
7	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Assistant	Pharmacie hospitalière

#### DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

##### 1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Professeur	Pharmacologie

##### 2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Maître de Conférences	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Maître de Conférences	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Maître de Conférences	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Maître de Conférences	Toxicologie/Chef de DER
5	Madani	MARIKO	Maître de Conférences	Chimie Ana/ Bromatologie
6	Hamadoun Abba	TOURE	Maître de Conférences	Chimie Ana/Bromatologie
7	Karim	TRAORE	Maître de Conférences	Pharmacologie

##### 3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Maître-Assistant	Pharmacologie
2	Dalané Bernadette	COULIBALY	Maitre-Assistant	Chimie Ana/Bromatologie

##### 4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Blaise	DACKOUO	Assistant	Chimie Ana/Bromatologie
2	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Assistant	Pharmacologie
3	Mohamed El Béchir	NACO	Assistant	Chimie Ana/Bromatologie
4	Mohamed	TOURE	Assistant	Pharmacologie

**DER : SCIENCES FONDAMENTALES**

**1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
-	-	-	-	-

**2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Maître de Conférences	Botaniq-Biol. vég. <b>Chef de DER</b>
2	Boubacar	YALCOUYE	Maître de Conférences	Chimie organique

**3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Joseph Sékou B.	DEMBELE	Maître-Assistant	Biologie végétale
2	Modibo	DIALLO	Maître-Assistant	Génétique
3	Boureima	KELLY	Maître-Assistant	Physiologie médicale

**4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE**

**CHARGES DE COURS (VACATAIRES)**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie de la santé
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Moussa I	DIARRA	Biophysique
6	Lassana	DOUMBIA	Chimie minérale
	Oumar	SAMASSEKOU	Génétique
7	Djibril	SANGARE	Biosécurité
8	Modibo	SANGARE	Anglais
9	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
10	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
11	Fana	TANGARA	Mathématiques
12	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
13	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

Bamako, le 6 mars 2026



P/Le Doyen PO  
Le Secrétaire Principal,

*Seydou Coulibaly*  
**Seydou COULIBALY**  
Administrateur Civil



# **Dédicaces**

**À Allah,**

Le Tout-Puissant, le Très Miséricordieux, l'Omnipotent.

À Lui reviennent mes premières pensées et ma plus profonde gratitude.

C'est par Sa volonté que j'ai emprunté ce chemin,

par Sa miséricorde que j'ai été guidée,

et c'est encore par Sa grâce que je suis arrivée jusqu'à ce jour.

**À ma famille,**

Vous avez été une source de joie et d'amour inestimable.

Votre foi en moi a nourri ma motivation, et votre soutien m'a permis de cheminer avec sérénité et confiance.

Grâce à votre présence bienveillante, j'ai pu avancer en harmonie, portée par votre amour. Ce travail est le fruit de tout ce que vous m'avez offert de beau et de positif.

À travers cette réalisation, je vous rends un profond hommage, avec toute ma gratitude.



# Remerciements

## **Remerciement**

Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans le soutien, les encouragements et la présence bienveillante de certaines personnes chères à mon cœur. À vous qui m'avez accompagnée, soutenue, conseillée ou simplement cru en moi, je tiens à vous exprimer toute ma gratitude. Par ces quelques mots, je vous remercie du fond du cœur pour votre aide précieuse, votre confiance et votre amour tout au long de ce parcours.

Ce travail est aussi le vôtre :

### **À mon père Cheickna Hamalla SISSOKO,**

L'homme au grand cœur, rempli d'amour pour ses enfants comme pour ceux des autres.

Un véritable ami, un guide, un pilier.

Tu nous as élevés avec tendresse, sagesse et patience. Tes conseils ont façonné la femme que je suis aujourd'hui.

Tu as toujours incarné la bonté, la générosité, le partage et l'intégrité.

Ta foi en moi, ton soutien silencieux, ta patience constante ont été pour moi des sources inépuisables de motivation.

Tu m'as appris que le travail, l'honnêteté et la persévérance sont les clés pour atteindre ses rêves. Dans ton regard bienveillant, j'ai puisé la force de surmonter les épreuves et de croire en moi.

Ce travail est l'expression de ma profonde gratitude.

Et j'espère, de tout cœur, qu'il te rendra fier, encore et toujours.

### **À ma mère SANOGO Rokia,**

Le pilier de notre famille.

Tu nous as élevés dans les difficultés, sans jamais laisser paraître l'ampleur des sacrifices que tu faisais pour notre bien.

Tu as toujours voulu le meilleur pour nous, au prix de tes propres renoncements.

Tu es l'incarnation de la générosité, du partage, du courage et de la force. Tu nous as transmis

des valeurs essentielles : le travail, l'intégrité, le respect.

Grâce à toi, j'ai reçu une éducation solide, empreinte de principes justes et durables, sans que tu ne failles une seule fois.

Ton amour discret mais infini, ton soutien constant, et ta foi inébranlable en mes capacités ont nourri ma force intérieure et ma confiance.

Tu as semé en moi des valeurs précieuses qui m'accompagnent chaque jour.

Je te dois tout.

Et ce travail t'est dédié, en reconnaissance de tout ce que tu as accompli pour moi.

### **A ma tante Chata Koné (ma deuxième maman)**

Une femme au grand cœur, qui m'a aimée comme son propre enfant.

Par ta générosité, tes conseils précieux et ton soutien constant, tu as été une lumière sur mon chemin. Tu m'as transmis l'amour des études et tu as toujours été une source inépuisable de motivation. Ton amour inconditionnel a profondément marqué mon parcours, et je t'en suis infiniment reconnaissante.

Ce travail t'est dédié, en hommage à tout ce que tu représentes pour moi.

### **À mes tantes,**

Plus particulièrement à Assétou Sanogo, Fanta Batoma Sissoko et Awa Sanogo, Agaicha Soumaré ;

Des femmes courageuses, pleines de sagesse et de générosité. Vous avez toujours été là pour moi, présentes dans les moments clés, avec vos conseils éclairés, votre soutien indéfectible et votre amour sincère. Merci pour votre confiance en moi, pour chaque mot d'encouragement et chaque geste d'affection.

Ce document vous est dédié, en reconnaissance de tout ce que vous m'avez offert.

### **À mes oncles,**

Je vous remercie du fond du cœur pour vos encouragements, votre savoir-faire, votre confiance et l'amour inconditionnel que vous m'avez toujours témoigné.

Votre présence, vos conseils et votre bienveillance ont été pour moi une source précieuse de force et d'inspiration tout au long de ce parcours.

### **À mes neveux et nièces**

Seydou BAMBA, Sounkalo BAMBA, Masoni BERTHE, Zey Seydou BERTHE, Rokia BAMBA et tous les autres que je ne peux tous nommer ici,

Votre venue dans ma vie a été une immense source de joie.

Vous tenir dans mes bras pour la première fois fut un moment d'émotion indescriptible.

Vos sourires, vos éclats de rire et votre innocence sont parmi les choses les plus pures et les plus douces qu'on puisse imaginer.

À travers vous, vos câlins même quand vous les fuyez m'apportent une paix que rien ne peut égaler.

Merci d'exister, tout simplement.

### **À mes sœurs,**

Rokiatou SISSOKO,

Que ton âme repose en paix. La mort n'efface pas l'amour, elle le rend éternel.

Merci à toi, ma sœur, toi qui étais une grande âme, simple et vraie.

Je t'ai souvent fatiguée, mais tu n'as jamais cessé de croire en moi. Ton souvenir m'accompagne et me porte encore aujourd'hui.

Awa SISSOKO, Aminata SISSOKO, Maimouna SISSOKO, Minian SISSOKO, Mariam SANOGO, Assetou SISSOKO,

Vous n'êtes pas seulement mes sœurs, vous êtes aussi mes amies, mes confidentes, mes piliers. Vous avez été présentes dans les bons comme dans les mauvais moments, toujours prêtes à m'épauler et à croire en moi.

À travers ce document, je vous exprime toute ma gratitude.

Merci pour votre amour, votre soutien et votre foi en moi.

Je vous porte dans mon cœur, aujourd'hui et toujours.

### **À mes frères,**

Amadou SISSOKO, Dramane SISSOKO, Oumar SISSOKO, Youba SISSOKO, Hamala KOUYATE

Merci pour votre amour inconditionnel.

Vous m'avez toujours traité avec une tendresse royale, comme une princesse entre vos mains.

Vous avez cru en moi, même dans mes moments de doute, et m'avez soutenue avec des mots

réconfortants. Vos peines étaient les miennes, et mes joies devenaient les vôtres. Vous m'avez toujours souhaité le meilleur, écoutée sans jamais juger, et portée avec bienveillance tout au long de ce chemin. Ce document vous est dédié, en témoignage de ma reconnaissance et de l'amour profond que je vous porte.

Merci pour tout, mes frères.

**À Dr GUINDO Amadou,**

Homme humble et plein de sagesse, merci de m'avoir accueillie comme une sœur et guidée avec bienveillance. Vos conseils, vos anecdotes et votre générosité ont marqué mon parcours. Ce document vous est dédié en signe de profonde gratitude.

**À Dr THIAM Salif,**

Merci pour ta patience, pour le partage généreux de tes connaissances, et pour ta présence. Ton soutien a été précieux à bien des étapes, et je te suis profondément reconnaissante d'avoir toujours été là pour moi.

**Au personnel ACEME (Africain Center for Excellence Molecular Engineering) :**

Au feu Dr COULIBALY Mamadou, Amadou GUINDO, Lakamy SYLLA, Daouda NIARE, Brehima DIALLO, Boubacar TEMBELY, Bilkissou YAGOURE, Sidy DOUMBIA, Alahaye Mahamane MAIGA, Amadou Sékou TRAORE, Adama SACKO, Daman SYLLA, Hawa BAMANE, Abdoulaye TRAORE, Baba M'BARAKOU, Bakara DICKO, Souleymane KODIO, Fatoumata TRAORE, Hatouma SAMOURA, Kadiatou SANOGO, Amadou DIABAGATE je vous adresse un sincère merci pour votre soutien, votre précieuse collaboration et votre remarquable esprit d'équipe.

Votre présence, vos échanges et votre bienveillance ont grandement contribué à rendre ce parcours plus riche, plus humain et plus motivant.

Merci d'avoir fait de cette aventure un moment de partage et d'entraide.

**À mes cousins et cousines,**

Plus particulièrement à Ouriba DIALLO, Lalia DIALLO, Ada SOGODOGO, Benkaly CISSE et Awa CISSE,

Merci pour votre soutien précieux et votre belle complicité tout au long de mon parcours.

Votre présence à mes côtés, vos encouragements et vos marques d'affection ont compté plus

que vous ne l'imaginez.

Merci d'avoir été là, tout simplement.

### **À l'équipe LMIV**

Plus particulièrement à Dr Daman SYLLA, Adama Sacko, Abou SACKO je vous remercie sincèrement pour votre présence, votre soutien constant et votre bienveillance tout au long de ce parcours. Vous avez été ma première équipe, celle grâce à laquelle j'ai énormément appris. À vos côtés, j'ai compris qu'un cadre professionnel peut être bien plus qu'un simple lieu de travail : une véritable famille.

Je vous suis profondément reconnaissante pour les expériences enrichissantes que nous avons partagées, ainsi que pour l'esprit de collaboration et de solidarité qui a toujours animé notre équipe.

### **À l'équipe GIS,**

Plus particulièrement à Dr Mahamoudou TOURE, Makan Keita, Dr SANOGO Daouda et Maimouna DEMBELE, Kadidiatou COULIBALY merci pour votre présence, votre soutien constant et votre bienveillance tout au long de ce parcours.

Je vous suis reconnaissante pour les expériences enrichissantes partagées, ainsi que pour l'esprit de collaboration et d'échange qui a toujours régné au sein de l'équipe.

### **À mon amie Mariama GAKOU,**

Ma confidente et complice depuis le début, merci pour tes mots réconfortants et ton soutien fidèle. Tu as toujours cru en moi et m'as aidée à avancer avec force et sérénité.

Ton amitié a rendu ce long chemin plus doux et lumineux.

### **À ma famille du Point G,**

Merci pour votre accueil chaleureux et votre grande générosité, qui m'ont permis d'évoluer dans un environnement sain et propice à mes études.

Votre bienveillance a grandement contribué à la réussite de ce parcours.

### **À la 16<sup>e</sup> promotion du numerus clausus, section Pharmacie,**

Merci pour ces moments de partage, d'entraide et de camaraderie qui ont marqué mon parcours et rendu cette aventure encore plus humaine et mémorable.

**Au corps professoral,**

À mes enseignants du primaire, du secondaire, ainsi qu'à ceux de la Faculté de Pharmacie,  
Merci pour vos qualités intellectuelles, votre disponibilité et votre passion pour l'enseignement.

**À toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont soutenue dans la réalisation de ce travail sans être nommées ici : sachez que vous avez toutes marqué mon parcours et ma vie.**



# **Hommage aux membres du jury**

**A notre Maître et président du jury**

**Professeur Sékou Fantamady TRAORE**

- ❖ **PhD en Entomologie Médicale, Professeur d'entomologie médicale**
- ❖ **Directeur honoraire du département Entomologie du centre de recherche et de formation sur le paludisme MRTC**
- ❖ **Professeur honoraire à la faculté de pharmacie**

**Cher maître**

Cher maître, c'est avec plaisir et spontanéité que vous avez accepté de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Nous vous remercions sincèrement pour la qualité de votre enseignement et l'intérêt que vous portez à ce travail.

Votre clarté, votre simplicité, ainsi que vos grandes qualités humaines, alliées à votre remarquable compétence, nous ont profondément marqués.

Veillez agréer, Professeur, l'expression de nos sincères remerciements et de notre profond respect.

**A notre Maître et juge**

**Dr Cheick Amadou COULIBALY**

- ❖ **PhD en Entomologie et Parasitologie médicales,**
- ❖ **Spécialiste en Entomologie médicale et vétérinaire,**
- ❖ **Maître de recherche à la Faculté de Pharmacie (FAPH),**
- ❖ **Chercheur au IDMERTC.**

**Cher Maître,**

Votre rôle dans l'évaluation de ce travail est d'une importance capitale. Votre passion constante pour la recherche suscite en nous une grande admiration. Votre regard à la fois critique et constructif constitue un véritable privilège, enrichissant non seulement ce travail, mais également notre parcours académique.

Veillez recevoir ici l'expression de notre profonde gratitude.

**A notre Maître, encadreur et juge:**

**Monsieur Lakamy Sylla**

- ❖ **Doctorant en entomologie et biologie moléculaire,**
- ❖ **Spécialiste en biosécurité et biosureté,**
- ❖ **Spécialiste en management de l'environnement et du développement durable,**
- ❖ **Co Investigateur Principal du projet ACEME,**
- ❖ **Chercheur au département d'entomologie du IDMERTC**

**Cher maître,**

Votre expertise reconnue, votre rigueur scientifique exemplaire et votre engagement constant dans l'élaboration de ce travail ont constitué pour nous une source inestimable d'inspiration et de guidance. La pertinence de vos observations et la finesse de votre regard critique ont considérablement enrichi notre réflexion et marqué une étape décisive dans notre parcours académique.

Nous conservons de vous l'image d'un maître accessible, humble et attentif. Les mots demeurent insuffisants pour exprimer notre profonde gratitude pour tout ce que vous avez apporté à notre formation et à notre épanouissement scientifique.

Veillez agréer, cher Maître, l'expression de notre reconnaissance la plus profonde et respectueuse.

**A notre Maître et co-directeur**

**Docteur Sidy DOUMBIA**

- ❖ **Docteur en Médecine,**
- ❖ **Spécialiste en santé publique / Epidémiologie,**
- ❖ **Attaché de Recherche à la Faculté de Médecine et d'Odonto-stomatologie (FMOS)**
- ❖ **Chercheur au IDMERTC**

**Chers maîtres,**

Nous avons toujours apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de notre collaboration. Votre soutien et votre assistance ont été constants, malgré vos multiples occupations. Honorable Maître, veuillez recevoir l'expression de notre profonde reconnaissance.

**A notre Maître et Directeur de thèse**

**Professeur Mahamadou DIAKITE**

- ❖ **PhD en Immunogénétique humaine et parasitaire,**
- ❖ **Recteur de l'Université des Sciences des Techniques et des Technologiques de Bamako,**
- ❖ **Chef de l'Unité d'Immunogénétique et parasitologie du IDMERTC,**
- ❖ **Directeur Scientifique adjoint du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC),**
- ❖ **Secrétaire permanent du Comité Institutionnel d'Ethique de l'USTTB.**

Vous nous faites un immense honneur en acceptant de superviser ce travail, malgré vos multiples occupations. Votre humanisme, votre sens élevé de la responsabilité et votre souci du travail bien accompli nous ont profondément impressionnés.

En nous permettant de bénéficier de votre sagesse, de vos connaissances et de votre grande humilité, vous nous avez énormément enrichis. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Cher Maître, puisse Dieu vous accorder une longue vie, afin que vous continuiez à apporter votre précieuse contribution à l'édifice.

# **Sigles et abrévia- tions**

**%** : Pourcentage

**°C** : Degrés Celsius

**Ac(DSM)**: *Anopheles coluzzii* (dominant stérile male, DSM)

**Ac(WT)**: *Anopheles coluzzii* (type Sauvage, WT)

**ACL2**: Niveau de confinement des arthropodes 2 (Arthropod Containment Level 2)

**ACEME**: Centre africain d'excellence en ingénierie moléculaire

**ADNr** : Acide Désoxyribonucléique ribosomique

**Ag(DSM)**: *Anopheles gambiae* (mâle stérile dominant, DSM)

**An**: *Anopheles*

**ARN**: Acide Ribonucléique.

**ARNi** : L'interférence de l'acide ribonucléique.

**Cm** : Centimètre

**CPS** : Chimio prévention du Paludisme Saisonnier

**CRISPR**: Répétitions palindromiques courtes, groupées et régulièrement espacées

**Cx**: *Culex*

**DsRed**: Rouge des fonds marins sombres

**FAPH** : Faculté de Pharmacie

**FMOS** : Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

**FsRILD**: Lâcher ciblé de femelles d'insectes porteurs d'un gène létal dominant

**G3** : Souche de *Anopheles gambiae s.l*

**GFP**: Protéine fluorescente verte

**HEG**: Gène de l'endonucléase homing

**HR** : Humidité relative

**IC** : Incompatibilité Cytoplasmique

**ICER-Mali**: Centre International d'Excellence en Recherche – Mali

**IDMERTC**: Centre de Recherche et de Formation sur les Maladies Infectieuses et l'Entomologie Médicale

**IIT** : Technique de l'insecte incompatible

**IRSS** : Institut de Recherche en Sciences de la Santé

**L1** : Larves de premier stade

**L2** : Larves de deuxième stade

**L3** : Larves de troisième stade

**L4** : Larves de quatrième stade

**MEADD** : Ministère de l'Environnement, de l'Assainissement et du Développement Durable

**MILD** : Moustiquaires Imprégnées d'insecticides à Long Durée

**MMC** : Moyenne des Moindres Carrés

**MRTC** : Centre de recherche et de formation sur le paludisme

**Neg** : négatif/ive

**Oxitec** : Oxford Technologies liées aux insectes

**PBS** : Phosphate-Buffered Saline (Tampon phosphate salin)

***P. falciparum*** : *Plasmodium falciparum*

***P. knowlesi*** : *Plasmodium knowlesi*

***P. malariae*** : *Plasmodium malariae*

***P. ovale*** : *Plasmodium ovale*

***P. vivax*** : *Plasmodium vivax*

**PID** : Pulvérisation Intra-Domiciliaire

**Pos**: Positif/ive

**RC**: Rétrocroisement

**RILD**: Lâcher d'insectes porteurs d'un gène létal dominant

**SAS** : Petit vestibule

**SD** : Ecart type (Standard of Deviation)

**SIT** : Technique de l'Insecte Stérile

**SOP** : Standard Operating Procedure (Procédure opérationnelle normalisée)

**TE** : Eléments Transposables

**TL 50** : Temps létal 50 % en jours

**UCMI** : Initiative contre le paludisme de l'Université de Californie

**USTTB** : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako

# **Table des matières**

## Table des matières

<b>1. Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Objectifs</b> .....	<b>4</b>
2.1. Objectif général.....	4
2.2. Objectifs spécifiques.....	4
<b>3. Généralités sur les moustiques génétiquement modifier</b> .....	<b>6</b>
3.1. Moustiques génétiquement modifiés et lutte antivectorielle contre les maladies.....	6
3.1.1. Approche autolimitative.....	8
3.1.1.1. Technique d'insecte stérile.....	9
3.1.1.2. Facteurs de distorsion de la sex-ratio autosomique.....	11
3.1.1.3. Technique Insectes Incompatibles TII.....	12
3.1.1.4. Technique d'insecte incompatible et SIT combinées : Principes et quelques exemples	13
3.1.2. Approche autonome ou auto-entretenu.....	14
3.1.2.1. Moteurs méiotiques.....	14
3.1.2.2. Impulsion génétique basé sur le ciblage.....	14
3.1.2.3. Impulsions génétiques basés sur CRISPR-Cas.....	15
3.2. Technique impulsion génétique.....	15
3.2.1. Impulsion génétique.....	15
3.2.2. Anti-Impulsions génétiques.....	16
3.3. Paratransgénése.....	17
3.4. Etat de lieux de la mise en œuvre des approches basées sur les moustiques génétiquement modifiés dans la lutte anti-vectorielle.....	18
3.4.1. Utilisation d' <i>Aedes</i> spp.....	18
3.4.2. Paludisme- <i>Anophele</i> .....	18
3.4.2.1. Biologie de <i>Anopheles</i> vecteurs.....	18
3.4.2.1.1. Morphologie.....	18
3.4.2.1.2. Cycle de vie.....	20
3.4.2.1.3. Reproduction.....	22
3.4.2.1.4. Cycle de parasite.....	22
3.4.2.1.5. Longévité.....	23

3.4.2.2.	Situation dans le monde .....	23
3.4.2.3.	En Afrique .....	24
<b>4.</b>	<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>28</b>
4.1.	Laboratoire d'étude.....	28
4.2.	Type et période d'étude.....	30
4.3.	Population d'étude.....	30
4.4.	Déroulement des expériences.....	31
4.4.1.	Établissement des cages expérimentales.....	31
4.4.2.	Gorgement.....	33
4.5.	Détermination de la fécondité et la fertilité des femelles AC(DSM)2.....	34
4.5.1.	Fécondité .....	34
4.5.1.1.	Mise en ponte et collecte des œufs.....	34
4.5.1.2.	Comptage des œufs .....	35
4.5.2.	Fertilité.....	36
4.5.2.1.	Lavage des œufs.....	36
4.5.2.2.	Conditionnement des œufs .....	36
4.5.2.3.	La fertilité .....	37
4.6.	Détermination du temps de développement larvaire des moustiques Ac(DSM)2 : .....	38
4.6.1.	Établissement des plateaux.....	38
4.6.2.	Tri des larves.....	38
4.6.3.	Collecte des nymphes.....	39
4.7.	Rapport de sexe lors de tri des nymphes .....	40
4.7.1.	Séparation des nymphes .....	40
4.8.	Emergence des adultes .....	41
4.9.	Analyses statistiques .....	42
<b>5.</b>	<b>Résultats.....</b>	<b>44</b>
5.1.	Résultats globaux .....	44
5.2.	Fécondité et fertilité.....	44
5.2.1.	Fécondité .....	44
5.2.2.	Fertilité.....	45
5.3.	Détermination du temps de développement larvaire .....	45
5.4.	Détermination de ratio de sexe lors tri des nymphes.....	48
5.5.	Détermination du taux d'émergence .....	48

<b>6. Commentaires et discussion .....</b>	<b>52</b>
6.1. Fécondité et fertilité.....	52
6.1.1. Fécondité .....	52
6.1.2. Fertilité.....	52
6.2. Temps de développement larvaire.....	52
6.3. Détermination de ratio des sexes lors tri des nymphes.....	53
6.4. Taux d'émergence .....	54
<b>7. Conclusion et recommandation .....</b>	<b>56</b>
7.1. Conclusion .....	56
7.2. Recommandation .....	56
<b>8. Références .....</b>	<b>58</b>
<b>9. Annexes .....</b>	<b>68</b>
9.1. Protocole de maintien de la colonie de moustique mâle stérile .....	68
9.2. Processus du gorgement des cages pour la détermination de la stérilité sexuelle des mâles Ac(DSM)2.....	68
9.3. Lavages des œufs.....	69



# Liste des figures

1	<i>Figure 1. Techniques de la suppression ou le remplacement de populations .....</i>	7
2	<i>Figure 2. CRISPR-Cas9 .....</i>	8
3	<i>Figure 3: Gène d'Endonucléase Homing source.....</i>	10
4	<i>Figure 4. Activation d'un gène de nucléase I-Ppol, une endonucléase de type HEG ..</i>	10
5	<i>Figure 5. Technique d'insecte incompatible.....</i>	13
6	<i>Figure 6. Technique de Gene Drive Source ("A new genetic-engineering technology could spell the end for malaria," n.d.)(Burt, 2003) .....</i>	16
7	<i>Figure 7. Schéma descriptif des Moustiques adultes (Carnevale and Robert, 2009b)</i>	20
8	<i>Figure 8. Différents stades de développement des anophèles au cours de leur cycle biologique(Catry et al., 2018).....</i>	22
9	<i>Figure 9. Lâchers des MGM au Burkina Faso (Bana) <a href="https://infogm.org/burkina-faso-le-projet-target-malaria-continue-malgre-les-irregularites">https://infogm.org/burkina-faso-le-projet-target-malaria-continue-malgre-les-irregularites</a>.....</i>	25
10	<i>Figure 10. Situation géographique du laboratoire transgénique.....</i>	28
11	<i>Figure 11. Plan du laboratoire transgénique, coupe transversale. Source : laboratoire transgénique .....</i>	29
12	<i>Figure 12. Cage contenant les femelles Ac(DSM)2 et mâles Ac(WT) retrocroisées ....</i>	32
13	<i>Figure 13. Processus de préparation du jus.....</i>	32
14	<i>Figure 14: processus de gorgement .....</i>	33
15	<i>Figure 15. Gorgement des moustiques .....</i>	34
16	<i>Figure 16. Mise en place du pondoir .....</i>	35
17	<i>Figure 17. Les œufs des moustiques .....</i>	35
18	<i>Figure 18. Lavage des œufs avec du javel 1% sources ACEME .....</i>	36
19	<i>Figure 19. Mise en place des œufs dans les flotteurs après nettoyage.....</i>	37
20	<i>Figure 20. Inspection à la loupe binoculaire .....</i>	37
21	<i>Figure 21. Processus de tri des larves .....</i>	38
22	<i>Figure 22. Larve 1 modifié larve 2 non modifié.....</i>	39
23	<i>Figure 23. Collecte des nymphes.....</i>	39
24	<i>Figure 24. Photo des nymphes ; (1) nymphe femelle et (2) nymphe mâle.....</i>	40
25	<i>Figure 25. Pots de nymphe selon leur sexe et leur statut transgénique.....</i>	41
26	<i>Figure 26. Image de deux moustiques adultes An. Coluzzii mâle et femelle.....</i>	42
27	<i>Figure 27. Fécondité et rendement en œufs par cage pour chaque rétrocroisement ...</i>	44
28	<i>Figure 28. Taux d'éclosion moyen des œufs pour chaque rétrocroisement Barres d'erreur = Erreur type de moyenne.....</i>	45

29	<i>Figure 29. Temps moyen de développement larvaire pour chaque rétrocroisement selon les différentes catégories de larves.....</i>	46
30	<i>Figure 30. Moyenne de moindre carré de développement des larves pour toutes les catégories de larves.....</i>	47
31	<i>Figure 31. Proportion de femelles lors du tri des nymphes de Ac(DSM)2 pour chaque rétrocroisement.....</i>	48
32	<i>Figure 32. Évolution du taux d'émergence pour chaque rétrocroisement selon les différentes catégories de nymphes.....</i>	49
33	<i>Figure 33. Moyenne des moindres carrés pour les taux d'émergence (logit) des différentes catégories de nymphes.....</i>	50



# **Introduction**

## 1. Introduction

Le paludisme est une maladie fébrile causée par des parasites du genre *Plasmodium*, qui infectent les globules rouges et sont transmis à l'homme par la piqûre de moustiques *Anophèles* femelles infectés lors de leur repas sanguin. Cette maladie demeure un enjeu majeur de santé publique, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales où les conditions sont favorables à la prolifération des vecteurs (1). Six principales espèces de *Plasmodium* sont responsables du paludisme chez l'homme : *P. falciparum*, *P. malaria*, *P. ovale* (2), *P. vivax*, *P. knowlesi* (3) et *P. cynomolgi* (Raja et al., 2020).

Selon le dernier rapport de l'Organisation mondiale de la Santé, le paludisme a touché environ 282 millions de personnes en 2024, entraînant 610 000 décès à l'échelle mondiale. Par rapport à 2023, cela représente une augmentation de 11 millions de cas, tandis que le nombre de décès reste relativement stable (6). La région africaine reste la plus affectée, concentrant environ 94 % des cas mondiaux de paludisme, et 95 % des décès. Les enfants de moins de cinq ans représentent près de 75 % de ces décès, illustrant la vulnérabilité persistante de cette tranche d'âge (6). Au Mali, le paludisme représente une problématique majeure de santé publique. En 2023, on estime à environ 3 771 426 de cas confirmés, dont 1 197 864 cas graves, ainsi que 1 498 décès associés (PNLP-Mali, 2023-2024).

La lutte contre le paludisme repose sur une approche intégrée combinant la lutte antivectorielle, la chimio prévention et la prise en charge médicale rapide (6). La lutte antivectorielle regroupe des stratégies physiques, chimiques et biologiques visant à limiter la transmission du parasite par les moustiques (1). Les méthodes physiques comprennent l'usage de moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) (8), la réduction des gîtes larvaires par le drainage des eaux stagnantes et l'adoption de vêtements protecteurs (9). Sur le plan chimique, la pulvérisation intra-domestique (PID) d'insecticides, a joué un rôle clé dans l'éradication temporaire du paludisme dans certaines régions (10). Enfin, la lutte biologique explore l'utilisation de bactéries pathogènes pour les larves, de poissons larvivores et d'agents microbiens pour limiter la prolifération des vecteurs (11).

En dépit des efforts de lutte, les maladies à transmission vectorielle par les moustiques continuent de peser lourdement sur la santé humaine (12), notamment la résistance croissante des vecteurs aux insecticides et celle des parasites aux médicaments antipaludiques (13). Toutefois,

la lutte antivectorielle demeure un pilier fondamental dans la gestion des maladies transmises par les moustiques, telles que la dengue et le virus Zika (12). C'est pourquoi des appels ont été lancés en faveur du développement de nouvelles approches (14), à la fois plus fiables, respectueuses de l'environnement et durables, afin de venir compléter les stratégies existantes (14). Parmi elles, la modification génétique des moustiques émerge comme une solution prometteuse pour limiter la transmission des maladies (14).

Les stratégies de lutte génétique contre les moustiques suscitent un intérêt croissant dans la recherche, en raison de leur spécificité vis-à-vis des espèces ciblées, de leur efficacité déjà démontrée dans la lutte contre les insectes nuisibles en agriculture et de leur caractère non polluant pour l'environnement (15). Plusieurs programmes de recherche et de formation visant les moustiques *Aedes* et *Anopheles* tels que OXITEC, Transmission Zero, UCMI, Target Malaria et ACEME sont actuellement en cours de développement ou de déploiement dans diverses régions du monde (15).

Au Mali, le Centre de Recherche et de Formation en Entomologie Médicale et Maladies Infectieuses (IDMERTC) a obtenu, en 2019, une autorisation officielle (arrêté N° 2019-1563/MEADD-SG du 21 juin 2019) pour importer des œufs de moustiques génétiquement modifiés depuis le laboratoire de Terni, en Italie. Cette étape marquait une avancée majeure dans la mise en place de recherches innovantes, sur la lutte contre les vecteurs du paludisme.

Ces œufs ont été introduits dans un laboratoire de confinement de niveau 2 (ACL2), garantissant un cadre sécurisé pour l'expérimentation. Plusieurs études ont été menées sur la souche et le maintien de la colonie de moustiques génétiquement modifiées a permis de générer des données sur plusieurs générations.

Dans cette dynamique, la présente étude se propose de caractériser de manière approfondie les traits d'histoire de vie d'une colonie des moustiques génétiquement modifiés Ac(DSM)2, constituant ainsi une étape essentielle pour apprécier leur efficacité en tant qu'outil de lutte durable contre le paludisme.



# **Objectifs**

## **2. Objectifs**

### **2.1. Objectif général**

Caractériser les principaux traits d'histoire de vie de la colonie de moustiques mâles stériles génétiquement modifiés Ac(DSM)2 en conditions contrôlées de laboratoire au Mali.

### **2.2. Objectifs spécifiques**

- Déterminer la fécondité et la fertilité de la colonie Ac(DSM)2 ;
- Mesurer le temps de développement larvaire ;
- Déterminer le ratio de sexe lors du tri des nymphes ;
- Déterminer le taux d'émergence des adultes.

# **Généralités sur les moustiques**

### 3. Généralités sur les moustiques génétiquement modifier

#### 3.1. Moustiques génétiquement modifiés et lutte antivectorielle contre les maladies

Les avancées en matière de manipulation génétique ouvrent des perspectives majeures pour le développement et l'optimisation de nouvelles approches de lutte contre les maladies transmises par des vecteurs (12). En 1982, *Drosophila melanogaster* a été le premier insecte à faire l'objet d'une modification génétique stable, rendue possible grâce à l'utilisation d'un élément transposable (16). Cette technique a permis d'introduire dans la lignée germinale de l'insecte des gènes bénéfiques pour l'homme, tout en évitant d'altérer négativement l'insecte lui-même (17). En 1991, cette approche a été reconnue comme une méthode prometteuse dans la lutte contre le paludisme (18). Elle visait à développer des outils pour la modification stable de la lignée germinale des moustiques anophèles (James et al., 1999).

La première modification génétique chez les moustiques a été rapportée en 1998. Les auteurs avaient utilisé l'élément transposable Hermès, issu de la mouche domestique, pour insérer un gène marqueur de couleur des yeux chez *Aedes aegypti*. Deux ans plus tard, une transformation germinale a été réalisée chez *Anopheles stephensi*, vecteur du paludisme, à l'aide de l'élément transposable Minos provenant de *Drosophila* (19). L'année suivante, la première transformation génétique du principal vecteur africain *Anopheles gambiae* a été obtenue (20).

L'un des objectifs de cette modification était de créer des moustiques incapables de transmettre le paludisme et de mener des expériences contrôlées afin de tester les moyens d'introduire un trait génétique dans la population moustiques sauvage (21). Pour la mise en œuvre d'une telle approche, il est essentiel d'évaluer les risques et de mener des études visant à garantir la sécurité humaine et environnementale (OMS,2023). Il est également crucial de prendre en considération les implications éthiques, juridiques, et sociales, ainsi que les préoccupations du public (23). Contrairement aux méthodes classiques de lutte, le contrôle génétique des populations de vecteurs s'impose comme une approche particulièrement prometteuse, car il regroupe diverses technologies offrant des perspectives variées en matière d'efficacité et de contrôle, tout en ayant en commun leur spécificité vis-à-vis de l'espèce cible et leur innocuité pour l'environnement (24). Les stratégies génétiques de lutte contre les maladies à transmission vectorielle se divisent en deux grandes catégories (25) :

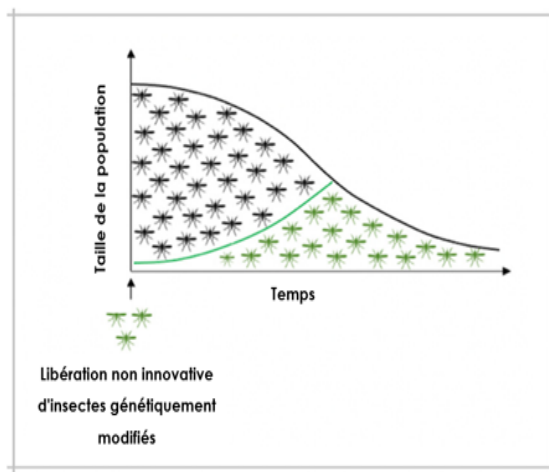
- **Suppression ou réduction de la population :**

Les stratégies de suppression des populations ont pour objectif de perturber les principaux paramètres de croissance, tels que le rapport de sexe ou la valeur adaptative, afin de réduire la densité des vecteurs (26). Cette approche a permis d'éradiquer avec succès plusieurs espèces d'insectes nuisibles (27). Plusieurs techniques sont utilisées pour la réduction de la population telles que la technique d'insecte stérile, l'incompatibilité cytoplasmique, etc...

- **Remplacement de la population :**

Le remplacement de la population, également appelée conversion de la population, consiste à introduire des changements génétiques dans les moustiques relâchés. Ces modifications peuvent inclure l'insertion d'un ou plusieurs gènes dans le génome ou l'introduction d'un endosymbionte maternellement hérité dans le cytoplasme (25).

### Suppression de la population



### Remplacement de la population

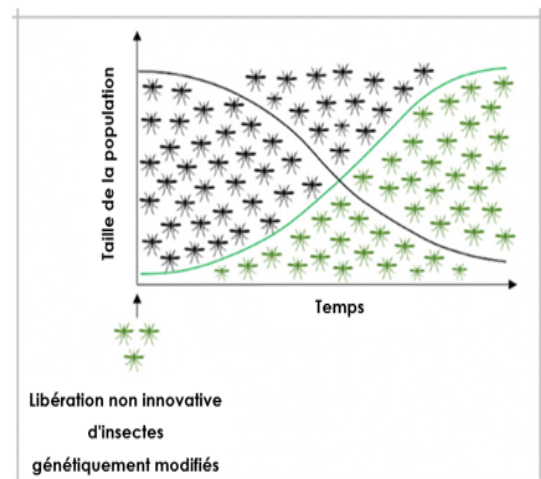


Figure 1. Techniques de la suppression ou le remplacement de populations

(13)

Pour réaliser une modification génétique, il est nécessaire d'utiliser des outils capables de couper l'ADN à des endroits précis tels que les nucléases (28). Parmi celles-ci, on peut citer :

- TALENs (Nucléases effectrices de type activateur de transcription).
- ZFNs (Nucléases à doigt de zinc) ;
- HEG (Gène d'Endonucléase Homing) ;

➤ CRISPR Cas est comme des courtes répétitions d'ADN qui sont palindromiques c'est à dire qu'on peut le lire de gauche à droite et de droite à gauche qui sont régulièrement espacées et sont regroupées dans le génome. C'est un mécanisme naturel utilisé par les bactéries pour se défendre contre les infections virales. Cas est une protéine associée au CRISPR.

a. L'ARN « guide » pour localiser le gène spécifique dans le génome qui doit être modifié ;

Le Cas, une enzyme dont le plus couramment utilisé est le Cas9 qui permet de couper les brins d'ADN comme une paire de ciseaux et à un endroit précis découverte par Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna en 2012 (29). (Figure 2).

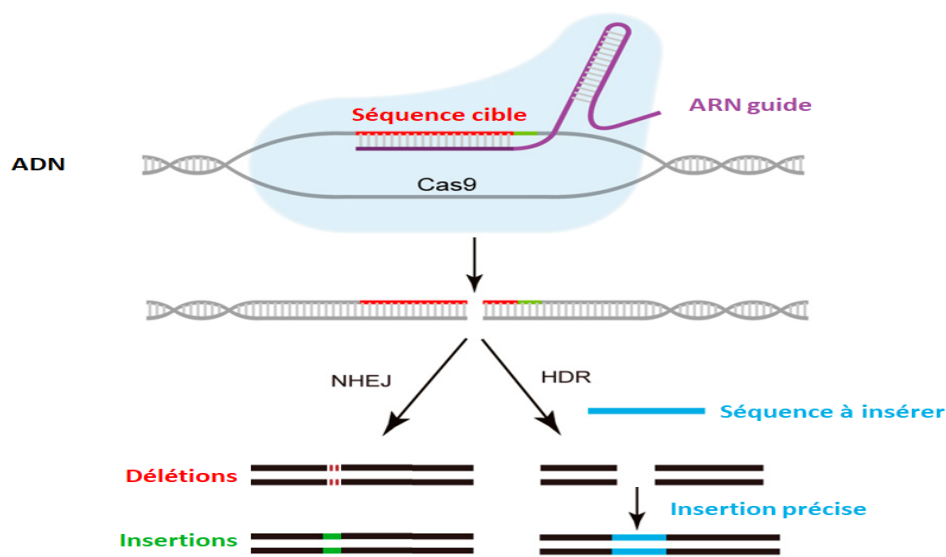


Figure 2. CRISPR-Cas9

(source: <https://bionum.u-paris.fr/modifier-ladn-par-crispr-une-nouvelle-page-secrit/>)

Les approches génétiques de lutte antivectorielle se distinguent également par la dynamique post-lâcher qu'elles induisent :

### 3.1.1. Approche autolimitative

Cette approche repose sur une persistance limitée dans le temps et l'espace, nécessitant ainsi sur l'élevage et la libération régulière d'un grand nombre de moustiques génétiquement modifiés pour maintenir leur impact sur la population cible (24) d'où son caractère autolimitatif.

### **3.1.1.1. Technique d'insecte stérile**

La Technique de l'Insecte Stérile (TIS), ou Sterile Insect Technique (SIT), est une méthode de lutte biologique autocide visant à réduire les populations d'insectes nuisibles. Développée dans les années 1950 par les deux entomologistes américains : Raymond C. Bushland et Edward F. Knipling, elle est aujourd'hui utilisée internationalement pour le contrôle de ravageurs agricoles et de vecteurs de maladies (30). Le principe général repose sur la libération de mâles stériles capables de s'accoupler avec les femelles sauvages, entraînant l'absence de descendance viable et, à long terme, une diminution de la population cible.

La stérilité des insectes peut être induite par irradiation dans le cadre de la technique de l'insecte stérile (TIS), une approche bien établie et largement appliquée dans le monde pour l'éradication, la suppression, le confinement ou la prévention de populations nuisibles ou vectrices (Grilli et al., 2021; Klassen, 2021). Après leur relâcher, les mâles stériles s'accouplent avec les femelles sauvages, n'engendrant aucune descendance viable et entraînant ainsi une réduction progressive de la population, en particulier chez les espèces peu polyandres (13). Mais cette approche présente certaines limites, notamment l'affaiblissement potentiel des mâles et la nécessité de doses parfois élevées (30). Ces contraintes ont favorisé l'émergence de nouvelles techniques visant à accroître l'efficacité ou à réduire les coûts de la méthode. Parmi ces avancées figurent des approches permettant d'obtenir des mâles stériles sans compromettre leur vigueur, d'améliorer leur compétitivité à l'accouplement (30).

Dans le cadre de la lutte contre le paludisme, on peut mentionner la stérilisation des moustiques mâles, obtenue par l'activation d'un gène de nucléase I-Ppol (32), une endonucléase de type HEG (Homing Endonuclease) (figure3) (33–35). Celle-ci cible et détruit une portion du chromosome X dans les spermatozoïdes ainsi que le chromosome X hérité de la mère chez les embryons (32,34).

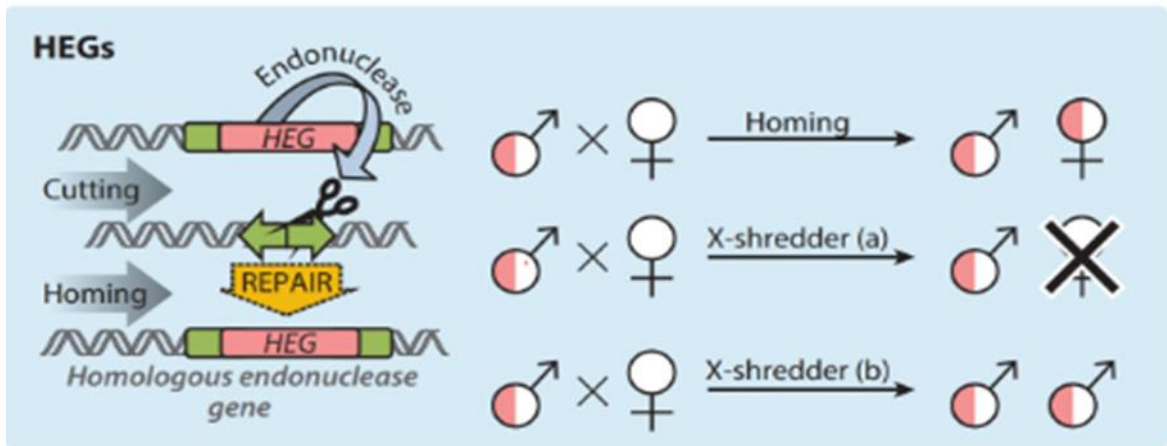


Figure 3: Gène d'Endonucléase Homing source

(33)

Lorsque ces moustiques mâles s'accouplent avec des femelles fertiles, les œufs produits n'éclosent pas (figure4) (32,34).

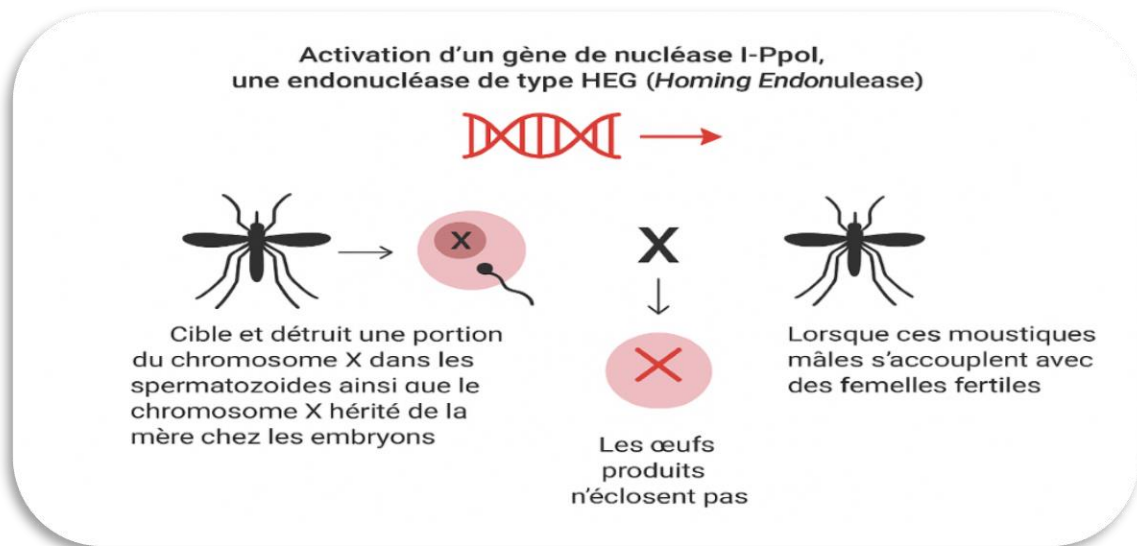


Figure 4. Activation d'un gène de nucléase I-Ppol, une endonucléase de type HEG

Un autre exemple est celui des mâles sans spermatozoïdes. Il consiste à modifier par inactivation un gène de différenciation des cellules germinales. Lorsque ces mâles modifiés s'accouplent avec des femelles, ces dernières montrent des réponses post-copulatoires normales et deviennent réfractaires à toute insémination future (27,36).

Une autre approche plus évolutive a été développée chez les mouches repose sur une technologie génétique dominante appelée « stérilisation guidée avec précision » (precision-guided SIT), repose sur la haute précision du système CRISPR pour inactiver simultanément des gènes essentiels à la viabilité des femelles et à la fertilité des mâles. La méthode utilise un schéma de sélection simple impliquant deux souches homozygotes : l'une exprimant Cas9 et l'autre exprimant des ARN double-guides (37). Un seul croisement entre ces deux souches suffit à induire des knockouts bialléliques dominants, guidés de manière synchrone sur les gènes cibles tout au long du développement. (37).

Un autre exemple est l'utilisation du lâcher d'insectes porteurs d'une létalité dominante (RIDL) (38). Cette méthode offre une grande flexibilité, car le gène léthal peut être programmé pour s'activer à un moment précis du développement du moustique (33). Il existe deux types de RIDL : le RIDL bi-sexe et le RIDL spécifique aux femelles, appelé fsRIDL. Dans le cas du RIDL bi-sexe, toute la progéniture meurt en raison d'une létalité transmise héréditairement(33).

### **3.1.1.2. Facteurs de distorsion de la sex-ratio autosomique**

Historiquement, pour obtenir des lignées exclusivement masculines, les scientifiques utilisaient une souche de sexage génétique reposant sur la résistance à la dieldrine liée au chromosome Y (39). Une distorsion sexuelle synthétique I-PpoI a été conçue pour cibler les chromosomes sexuels d'*Anopheles gambiae*, afin d'induire un fort biais contre les spermatozoïdes porteurs du chromosome X, entraînant ainsi une progéniture composée à 95 % de mâles . Au cours de la spermatogenèse, une séquence présente sur le chromosome X mais absente sur le chromosome Y est ciblée par une endonucléase fragmente le chromosome X, favorisant ainsi les spermatozoïdes porteurs du chromosome Y non affectés, ce qui conduit à la production d'une progéniture majoritairement masculine (34).

Un mécanisme alternatif, appelé empoisonnement du chromosome X, a été mis au point chez *Drosophila melanogaster*. Il repose sur l'induction de la létalité féminine par insuffisance de dose protéique, résultant de l'inactivation de gènes haplo-insuffisants liés au chromosome X, tels que le gène codant la protéine ribosomique RpS6 (40).

Une autre stratégie, connue sous le nom d'éditeur lié au chromosome Y (Y-linked editor, YLE), consiste à positionner une endonucléase sur le chromosome Y afin de cibler des gènes haplo-insuffisants liés au chromosome X ou impliqués dans la reproduction des femelles (41). Les

modèles prédictifs indiquent que cette approche présente une invasivité et un impact populationnel nettement plus élevés que ceux observés avec d'autres stratégies d'autolimitation, principalement en raison de la faible pression de sélection exercée contre le transgène, transmis uniquement par des mâles non affectés (41).

Néanmoins, les approches de distorsion du sex-ratio développées jusqu'ici en laboratoire intègrent généralement l'endonucléase ciblant le chromosome sexuel dans un locus autosomal. Par conséquent, seul un descendant sur deux hérite du transgène, conformément aux lois mendéliennes (42).

### 3.1.1.3. Technique Insectes Incompatibles TII

Une approche repose sur l'utilisation de micro-organismes symbiotiques tels que *Bacillus thuringiensis* var. *israelisais* et *Bacillus sphaericus*, qui peuvent empêcher les moustiques de transmettre un pathogène donné (43). Cette stratégie est considérée comme une stratégie écologiquement durable visant à remplacer la population ciblée dans le cadre du contrôle des maladies *arbovirales*. Dans ce cas, les symbiontes qui aident à la transmission du pathogène sont soit éliminés, soit génétiquement modifiés (via le *paratransgénèse*), rendant ainsi l'insecte incapable de transmettre l'agent infectieux.

*Wolbachia* bloque également la transmission de nombreux agents pathogènes humains chez les moustiques, y compris *Plasmodium* et le *chikungunya* (19,44–47). Dans la lutte contre le paludisme, l'application de *Wolbachia* progresse rapidement grâce à la découverte d'infections naturelles chez *Anopheles gambiae* et à la création de la première trans-infection stable chez *Anopheles stephensi*, qui inhibe l'infection par le parasite du paludisme humain *Plasmodium falciparum* (45).

Les micro-injections thoraciques de *Wolbachia* dans *Anopheles gambiae* ont permis d'obtenir des infections étendues au sein des tissus somatiques (48). Toutefois, l'absence d'infection des cellules germinales a empêché toute transmission verticale (48). En revanche, une lignée stable d'*Anopheles stephensi* infectée par la souche wAlbB issue de *Aedes albopictus* a pu être établie grâce à la micro-injection embryonnaire d'*ooplasm*e (48). Cette infection confère à *Anopheles stephensi* une protection partielle contre *Plasmodium falciparum*, se traduisant par une réduction modeste du nombre d'oocystes mais une diminution marquée du nombre de sporozoïtes

présents dans les glandes salivaires (49). Cette stratégie pourrait également être utilisée pour réduire et/ou remplacer les populations de moustiques vecteurs du paludisme (49). Parmi les nombreux exemples d'invasion de *Wolbachia*, on trouve une réduction de la compétence aux *arbovirus* dans les populations indigènes d'*Aedes aegypti* du sud-est du Brésil, notamment dans l'agglomération de Rio de Janeiro (50), et l'envahissement de deux populations naturelles d'*Aedes aegypti* en Australie, où la quasi-fixation a été atteinte en quelques mois après la libération de moustiques infectés (figure 6) (51).

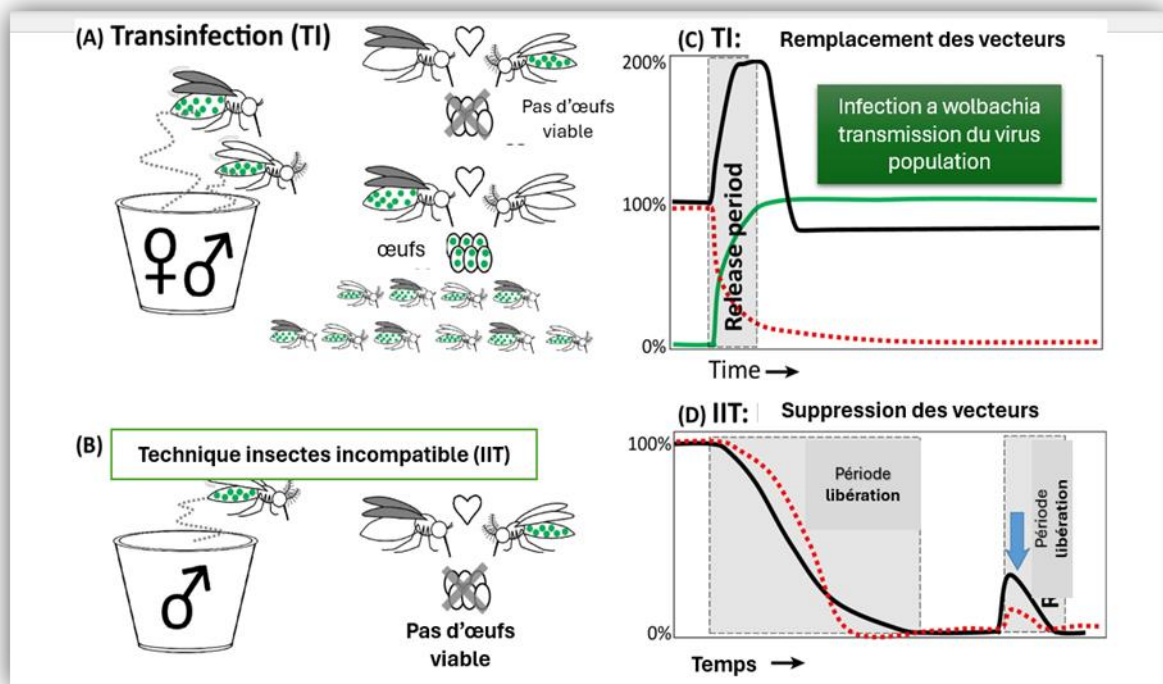


Figure 5. Technique d'insecte incompatible

Technique *Wolbachia* (A) transinfection (B) technique insecte incompatible (C) remplacement de la population des vecteurs (D) suppression de la population (52)

### 3.1.1.4. Technique d'insecte incompatible et SIT combinées : Principes et quelques exemples

La stérilité peut également être provoquée par la libération de moustiques mâles infectés par des souches de *Wolbachia*, une bactérie endosymbiotique qui infecte naturellement environ 40 % à 60 % des espèces d'insectes à travers de nombreuses familles (50,53). Ces souches de *Wolbachia* induisent une forme de stérilité appelée incompatibilité cytoplasmique (IC), dans laquelle les embryons de femelles non infectées fécondés par des mâles infectés ne parviennent

pas à se développer (figure5) (50). Les mâles infectés deviennent donc stériles lorsqu'ils s'accouplent avec des femelles non infectées ou infectées par une souche différente de *Wolbachia* (54) mais restent fertiles lorsqu'ils s'accouplent avec des femelles infectées par la même souche. La technique de suppression des populations basée sur l'IC est connue sous le nom de technique des insectes incompatibles (IIT) (12).

### **3.1.2. Approche autonome ou auto-entretenu**

Les technologies autonomes consistent à introduire des modifications génétiques capables de se maintenir et de se propager rapidement au sein de la population cible à partir d'un lâcher initial restreint, en favorisant leur transmission à la majorité de la descendance (55). Parmi les mécanismes moléculaires utilisés par les impulsions génétiques naturels pour se propager efficacement au sein des populations figurent :

#### **3.1.2.1. Moteurs méiotiques**

Les distorsions chromosomiques méiotiques contournent la loi mendélienne de ségrégation des allèles en mobilisant divers mécanismes. Parmi ceux-ci figurent la gonotaxie observée chez les femelles, qui permet à l'élément de se soustraire à l'élimination via les globules polaires durant l'ovogenèse et de migrer préférentiellement vers la lignée germinale plutôt que vers les tissus somatiques. Chez les mâles, la distorsion repose souvent sur la destruction sélective des gamètes, empêchant la formation de gamètes fonctionnels ne portant pas le facteur distorateur (56). Des exemples naturels de distorsions chromosomiques portées par le chromosome Y ont été documentés chez les moustiques *Aedes aegypti* (57) et *Culex pipiens* (58).

#### **3.1.2.2. Impulsion génétique basé sur le ciblage**

Les systèmes d'impulsion génétique fondés sur le ciblage tirent leur inspiration d'éléments génétiques égoïstes naturels tels que les gènes d'endonucléases de ciblage (HEG) observés chez divers organismes unicellulaires. Ces endonucléases reconnaissent et clivent des séquences d'ADN spécifiques, puis copient leur propre séquence codante sur l'allèle homologue par recombinaison homologue (RH), en utilisant l'allèle HEG comme matrice (55).

Ce mécanisme, appelé « ciblage », conduit à la conversion du locus portant le HEG d'un état hétérozygote vers un état homozygote. Cette conversion est irréversible, car l'insertion de la cassette HEG supprime la séquence de reconnaissance nécessaire à tout nouveau clivage. De

cette manière, les HEG peuvent se propager dans une population avec une hérédité supra-mendélienne (55). Des HEG synthétiques peuvent être conçus pour altérer la compétence vectorielle ou cibler des gènes essentiels à la survie ou à la reproduction (55), permettant leur utilisation dans des stratégies de remplacement ou de suppression de populations. L'idée d'exploiter les HEG pour contrôler les populations de vecteurs et de ravageurs remonte au début des années 2000 (55).

Peu après, une première preuve de concept a été établie chez *Anopheles gambiae* (59) et *Drosophila melanogaster* (60) grâce à l'endonuclease I-SceI, démontrant la faisabilité de ce type d'impulsion génétique.

### **3.1.2.3. Impulsions génétiques basés sur CRISPR-Cas**

Impulsions génétiques basés sur CRISPR-Cas, destinés au remplacement des populations, ont été développés chez *Anopheles stephensi*, vecteur asiatique du paludisme, ainsi que chez *Aedes aegypti* (13). Divers gènes effecteurs antipaludiques, utilisés comme « cargos », ont démontré en conditions de laboratoire leur efficacité à réduire la compétence vectorielle des moustiques pour la transmission du paludisme, constituant ainsi des outils prometteurs pour la modification des populations (61). Une lignée de impulsion génétique basée sur CRISPR a été établie chez *Anopheles gambiae*, présentant des taux de transmission élevés (98 à 100 %), sans impact significatif sur le fitness, et avec une incidence réduite de résistance (61)

## **3.2. Technique impulsion génétique**

Connue sous le nom de gene drive ou technique d'impulsion génétique reposent sur des systèmes d'hérédité biaisée qui favorisent la transmission accélérée d'un caractère génétique d'un parent à sa descendance au cours de la reproduction sexuée.

### **3.2.1. Impulsion génétique**

Elle introduit des séquences létales de gènes, capables de supprimer ou de réduire rapidement des populations entières de moustiques (62). Grâce à leur caractère autonome, ces approches pourraient, en combinaison avec d'autres outils, offrir des solutions durables et économiques pour lutter contre les populations d'anophèles sur le long terme (63,64).

Des études ont montré que des moustiques génétiquement modifiés grâce à la technologie d'impulsion génétique pouvaient atteindre une fréquence de transmission de 100 % en 7 à 11 générations (figure 8), ce qui a permis l'élimination d'une population de 600 moustiques en cage sans provoquer de résistance (65).

De plus, des essais en cage avec des moustiques portant une impulsion génétique visant un ratio de sexe de 1:1 ont permis d'atteindre une fréquence d'introduction de transgènes égale ou supérieure à 80 % en seulement 3 à 4 générations (66).

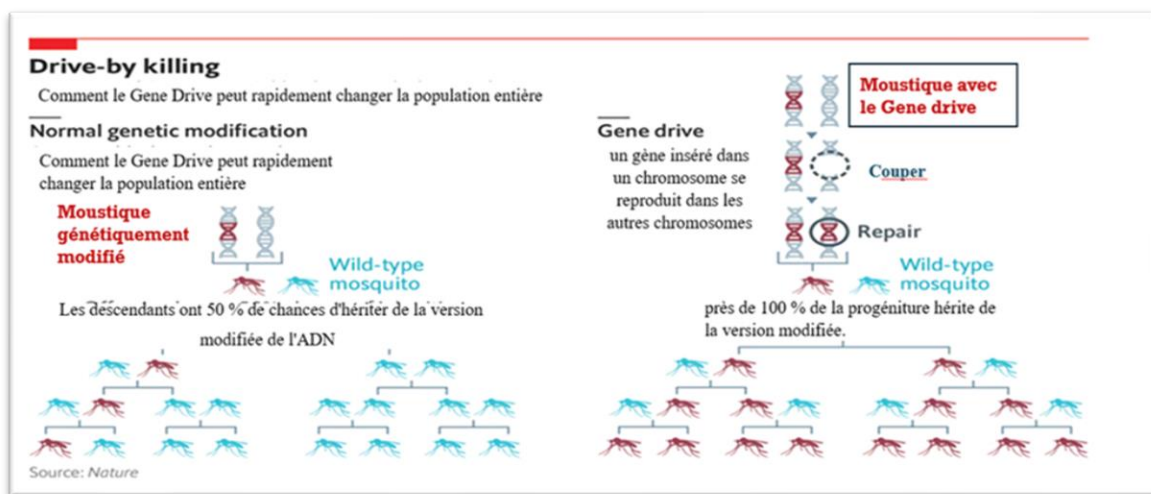


Figure 6. Technique de Gene Drive Source (55)

La stratégie d'impulsion génétique est une méthode extrêmement puissante qui permet de propager des mutations bloquant la reproduction des femelles, entraînant ainsi une réduction ou un remplacement significative des populations de moustiques (13,67,68).

### 3.2.2. Anti-Impulsions génétiques

Les défis associés à l'application des systèmes d'impulsion génétique en conditions réelles, ainsi que l'évolution des cadres réglementaires, indiquent que des approches capables de moduler ou d'inverser leur action pourraient constituer des composantes essentielles des stratégies d'atténuation des risques après leur dissémination. C'est dans cette optique que les chercheurs ont développé un système d'anti-impulsion basé sur la protéine AcrIIA4, afin d'inhiber la propagation d'une impulsion génétique au sein de populations d'*Anopheles gambiae* structurées

par âge et soumises à des conditions complexes d'alimentation et de comportement (25). Cette souche anti-drive a démontré sa capacité à empêcher la propagation et même à provoquer le déclin, voire dans certains cas l'élimination du gène drive suppressif Ag (QFS)1 dans des populations chevauchantes structurées par âge, reflétant des comportements et des contextes écologiques plus réalistes et complexes (25).

### 3.3. Paratransgénèse

La paratransgénèse se définit comme l'utilisation d'organismes symbiotiques naturellement présents dans l'intestin moyen des moustiques, capables de se disséminer rapidement au sein des populations de vecteurs, afin de produire et délivrer des molécules effectrices ayant une action antipathogène (69). Lorsque ces moustiques modifiés s'accouplent avec des moustiques non modifiés, ils transmettent le facteur héréditaire au sein de la population, rendant ainsi les moustiques incapables de transmettre le pathogène, sans qu'il soit nécessaire d'éliminer la population entière (70). Trois principales techniques peuvent être utilisées :

- la destruction directe des parasites,
  - la lyse (qui consiste en la désagrégation des parasites tués, permettant leur élimination) (71),
  - et la mélanisation, qui encapsule les parasites tués dans une couche dense de mélanine (71).
- Ce processus est un mode de clairance observé dans une souche appelée R, qui interrompt totalement le développement de certains parasites du paludisme, y compris le parasite simien *Plasmodium (cynomolgi bastianellii)*, un parasite simien (21).

Parmi les systèmes paratransgéniques les mieux caractérisés figurent plusieurs exemples remarquables.

On peut citer *Rhodococcus rhodnii*, génétiquement modifiée pour exprimer la cécropine A et ainsi perturber le développement de *Trypanosoma cruzi* chez la punaise triatomine *Rhodnius prolixus*, vecteur de la maladie de Chagas (72). D'autres modèles incluent *Sodalis glossinidius*, symbiote naturel de *Glossina spp*, vecteur de la trypanosomiase africaine (69). Des avancées significatives ont également été réalisées chez *Anopheles stephensi* et *Anopheles gambiae*, recolonisés avec des souches modifiées d'*Escherichia coli* (52), *Pantoea agglomerans* (73), *Asaia* (74) ou encore *Serratia* (75). Un avantage de la paratransgénèse par rapport aux autres

stratégies de lutte est que les micro-organismes utilisés sont relativement faciles à isoler, à modifier et à réintroduire dans le vecteur, et qu'ils peuvent être produits à grande échelle à un coût exceptionnellement bas (76).

### **3.4. Etat de lieux de la mise en œuvre des approches basées sur les moustiques génétiquement modifiés dans la lutte anti-vectorielle**

#### **3.4.1. Utilisation d'*Aedes* spp**

Afin de lutter contre les maladies telles que la dengue, la fièvre jaune et le zika, plusieurs lâcher ont eu lieu. En effet, des *Aedes aegypti* génétiquement modifiés ont été relâchés en pleine nature en Malaisie entre 2009 et 2010 (77), sur un site au Grand Caïman en 2010 (78), dans la ville de Piracicaba au Brésil en 2015 (78), au Panama en 2012 (77), et en Floride aux États-Unis en 2021. Ces essais ont tous utilisé des moustiques transgéniques *Aedes aegypti* (OX513A) développés par la société Oxitec (Waltz 2021). Des études de faisabilité sur l'utilisation de la technique des insectes incompatibles (IIT), avec ou sans irradiation, ont été menées en laboratoire et sur le terrain pour contrôler les populations de plusieurs espèces de moustiques : *Aedes aegypti* (79), *Anopheles stephensi* (49).

#### **3.4.2. Paludisme-*Anophele***

##### **3.4.2.1. Biologie de *Anopheles* vecteurs**

Le genre *Anopheles* sont des moustiques appartenant à la famille des *Culicidae*. Plus de 430 espèces d'*Anopheles* ont été recensées dans le monde, dont une quarantaine sont capables de transmettre le *Plasmodium* à l'être humain (80). En Afrique, le complexe *Anopheles gambiae s.l.* regroupe trois vecteurs majeurs du paludisme (81):

- *Anopheles gambiae*,
- *Anopheles coluzzii*
- *Anopheles arabiensis*.

Ces espèces, bien que morphologiquement identiques, se différencient par des barrières reproductives ainsi que par des préférences écologiques spécifiques.

##### **3.4.2.1.1. Morphologie**

Les anophèles adultes possèdent un corps allongé, divisé en trois parties distinctes (80) :

**Tête :** Les moustiques possèdent deux gros yeux composés, formés de nombreuses ommatidies, mais pas d'yeux simples « *ocelles* ». Ils possèdent deux antennes composées de 15 articles, présentant un fort dimorphisme sexuel :

- **mâles** : antennes plumeuses, avec de longues soies, équipées d'organes olfactifs pour détecter les phéromones et d'organes auditifs sensibles à certaines vibrations.
- **femelles** : antennes glabres, avec de courtes soies moins denses, portant de nombreux chémorécepteurs olfactifs utilisés pour repérer et localiser l'hôte lors du repas sanguin.

**Thorax :** Le thorax est constitué de plaques chitinisées : dorsales (tergites), ventrales (sternites) et latérales (pleurites), chacune portant un nom spécifique. Il est également doté de deux paires de stigmates latéraux pour la respiration, ainsi que de nombreuses soies et écailles, dont la forme et la disposition servent à l'identification des espèces. Le thorax supporte une paire d'ailes et trois paires de pattes (80).

**Abdomen :** L'abdomen comporte 10 segments, dont au moins 7 sont bien visibles. Il est recouvert d'écailles, dont la disposition varie selon les espèces et sert à leur identification. Les 7 premiers segments sont comparables et constitués de deux plaques chitinisées : dorsale (tergite) et ventrale (sternite), reliées par une membrane pleurale souple, permettant à l'abdomen de se distendre lors du repas sanguin et de l'oogenèse. L'intestin moyen et les ovaires se trouvent dans cette région, les ovaires grossissant fortement au cours du cycle gonotrophique. Les stigmates respiratoires s'ouvrent au niveau de la membrane pleurale.

Chez la femelle, le 8e segment est bien visible. Le 9e segment génital, portant le vagin, est réduit à une petite plaque tergale, suivie de deux cerques dorsaux, sous lesquels s'ouvre le rectum situé sur le 10e segment anal. Une plaque vaginale sépare le vagin du rectum, et le vagin est fermé par deux lèvres.

Chez le mâle, l'extrémité abdominale subit peu après la naissance une hémirrotation de 180° pendant environ 24 h, modifiant l'organisation des tergites pour la formation des organes génitaux mâles (80).

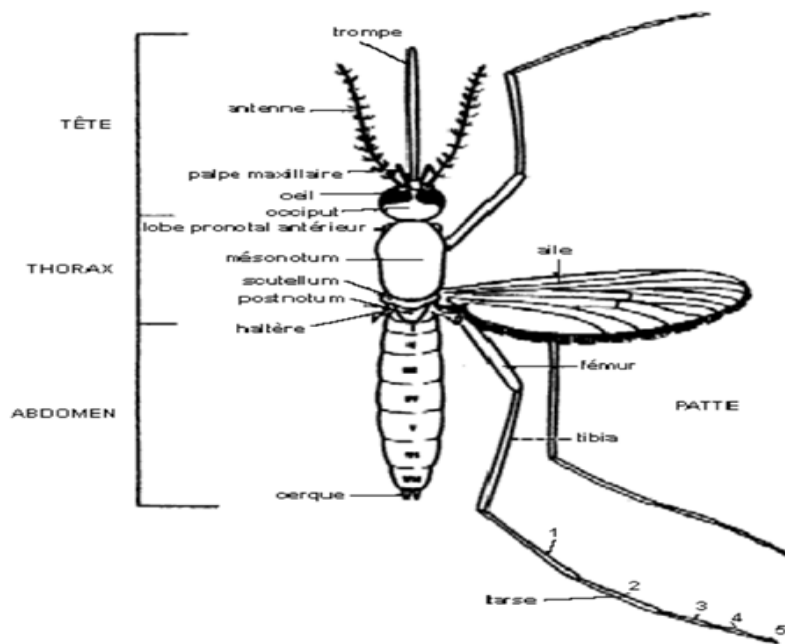


Figure 7. Schéma descriptif des Moustiques adultes

(82)

Le moustique mâle se nourrit exclusivement de substances sucrées, telles que les nectars floraux et extrafloraux ou les jus sucrés. La femelle, quant à elle, consomme à la fois ces sources sucrées, qui lui fournissent l'énergie nécessaire au vol, et du sang humain ou animal, essentiel au développement de ses œufs. C'est lors de la prise de sang qu'elle ingère accidentellement les parasites, assurant ainsi la transmission de la maladie d'une personne infectée à une personne saine.

#### 3.4.2.1.2. Cycle de vie

Au cours de leur développement, les moustiques du genre *Anopheles* présentent un cycle de vie en quatre étapes, réparties en deux phases : une phase aquatique (œuf, larve, nymphe) et une phase aérienne (adulte).

#### Vie aquatique

La phase aquatique, qui implique les stades œuf, larve et nymphe, dure habituellement entre 5 et 14 jours en fonction de l'espèce et de la température.

**Œufs** : Un à deux jours après le repas de sang, la femelle pond 50 à 300 œufs par ponte, pouvant atteindre 800 à 1000 œufs au cours de sa vie. Chez les *Anopheles*, les œufs sont déposés isolément sur des eaux stagnantes et sont les seuls à posséder des flotteurs latéraux. Peu résistants à la sécheresse, ils éclosent en 2 à 3 jours.

**Larves** : Les larves, qui restent parallèles à la surface pour respirer, se nourrissent de particules organiques. Elles passent par quatre stades, atteignant environ 5 mm avant la nymphose. Elles colonisent une grande diversité d'habitats : eaux douces ou saumâtres, rizières, fossés, canaux, marécages, flaques temporaires, etc.

**Nymphe** : Au quatrième stade, la larve devient nymphe, un stade intermédiaire non-alimentaire, en forme de virgule, qui remonte régulièrement à la surface pour respirer via ses trompettes respiratoires.

### **Vie aérienne**

La phase aérienne débute lorsque la nymphe parvient à la surface, où elle mue pour donner naissance à l'adulte (imago). La ligne ecdysiale du céphalothorax se rompt, permettant la libération progressive du thorax, de la tête, des antennes, des ailes, de la trompe, des pattes et de l'abdomen. L'adulte fraîchement émergé reste posé quelques instants sur son exuvie nymphale, le temps que ses ailes se déploient et que sa cuticule se durcisse, avant de s'envoler (80). L'émergence, qui ne dure que quelques minutes, constitue une étape critique marquée par une forte mortalité.

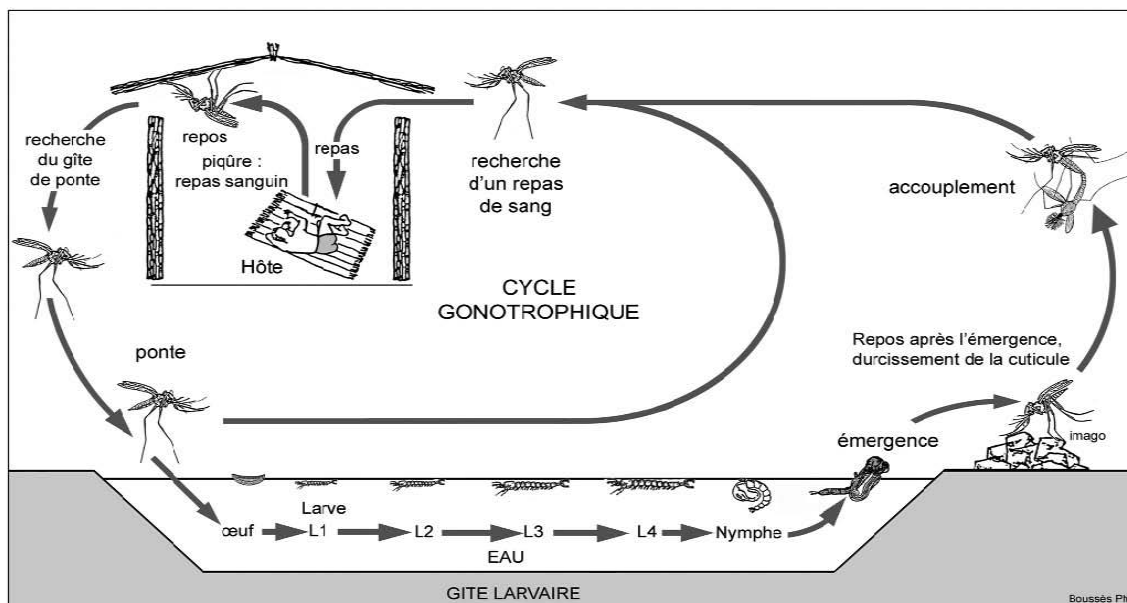


Figure 8. Différents stades de développement des anophèles au cours de leur cycle biologique(83)

### 3.4.2.1.3. Reproduction

La femelle ne copule généralement qu'une seule fois, recevant suffisamment de sperme pour féconder tous ses lots d'œufs successifs. La copulation se déroule principalement dans des essaims formés par les mâles au crépuscule et tôt le matin, en dehors des habitats, les femelles étant attirées selon l'espèce. Elle peut également avoir lieu à l'intérieur des habitations humaines. En général, la femelle prend son premier repas sanguin après la copulation, bien que certaines vierges puissent se nourrir de sang avant. Seules les femelles sont vectrices de maladies comme le paludisme, car elles ont besoin d'un repas de sang pour assurer la maturation de leurs œufs.

### 3.4.2.1.4. Cycle de parasite

Chez les moustiques, après avoir pris un repas de sang infecté, les gamétocytes mâles et femelles subissent une division qui entraîne la formation et la fusion des gamètes dans l'estomac du moustique connue sous le nom de cycle sporogonique, formant ainsi un zygote (84). Ce zygote se développe en ookinète, qui traverse l'épithélium de l'estomac pour atteindre la lame basale, où il se transforme en oocyste (85). Au fur et à mesure de sa maturation, l'oocyste libère des centaines de sporozoïtes dans l'hémocœle (85). Ces sporozoïtes migrent ensuite de l'esto-

mac vers les glandes salivaires en passant par l'hémolymphe. Une fois dans les glandes salivaires, les sporozoïtes subissent d'autres modifications avant d'être injectés dans la circulation sanguine de l'hôte lors d'un nouveau repas sanguin. Une fois dans les glandes salivaires, les sporozoïtes subissent d'autres modifications avant d'être injectés dans la circulation sanguine de l'hôte lors d'un nouveau repas sanguin (86,87). L'estomac du moustique représente une cible privilégiée pour perturber le cycle du parasite avant sa transformation en oocystes (88). Les oocystes croissent, se rompent et libèrent des sporozoïtes, qui se dirigent vers les glandes salivaires du moustique. L'inoculation des sporozoïtes dans un nouvel hôte humain perpétue le cycle de vie du paludisme.

#### **3.4.2.1.5. Longévité**

Elles peuvent vivre jusqu'à un mois, voire plus en conditions contrôlées, mais survivent rarement au-delà de deux semaines dans la nature. Fait notable, une femelle *Anopheles* colorée relâchée au Mali a été recapturée sept mois plus tard (89).

#### **3.4.2.2. Situation dans le monde**

Les mises en œuvre des approches basées sur les moustiques génétiquement modifiés ont pour objectif soit de réduire la population de moustiques vecteurs à un niveau tel que la transmission du pathogène soit grandement diminuée, soit de modifier la population de moustiques locaux pour limiter leur capacité à transmettre des maladies (25). Ces approches se divisent en méthode auto-limitatives (24), où la modification génétique tend à disparaître progressivement de la population, et en méthode autoentretenu (24), où la modification est conçue pour persister et même se propager dans la population cible et au-delà. Ces méthodes offrent des avantages en termes de spécificité et de durabilité des effets, ainsi qu'une adaptabilité aux diverses conditions de transmission des maladies (13). Parmi les méthodes proposées figure la technique de stérilité génétique, développée pour les principaux vecteurs du paludisme, tels qu'*An. gambiae* en Afrique (26), *An. Stephensi* en Inde (19) et *An. albimanus* en Amérique du Sud (90).

Les méthodes actuelles impliquant l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés incluent diverses approches :

- une nucléase spécifique qui coupe le chromosome X lors de la spermatogenèse chez les moustiques *Anopheles gambiae* (32), entraînant la production de moustiques sans spermatozoïdes (36),

- un système génétique létal dominant (Alphey, 2014)
- des peptides d'immunité innée, des peptides artificiels et une signalisation cellulaire modifiée (Wang et al., 2013),
- l'interférence ARN (Franz et al., 2006),
- des systèmes de transmission génétique « Gene drive » associés aux gènes d'endonucléase homing (HEG) pour impulser la modification génétique (Alphey, 2014),
- des éléments synthétiques de type Medea, inspirés des éléments égoïstes naturels Medea de *Tribolium castaneum* (Chen et al., 2007),
- des approches de modification basées sur la technologie CRISPR (Kyrou et al., 2018; Smidler et al., 2024).
- une souche transgénique a été développée avec un gène codant pour l'activateur de transcription répressible à la tétracycline (tTA), une protéine dont la forte expression est nuisible au développement cellulaire (Fu et al., 2010).

En 2019, des lâchers de moustiques mâles stériles *Anopheles coluzzii* ont été réalisés au Burkina Faso, représentant un progrès notable pour l'Afrique dans l'utilisation de techniques génétiques contre les moustiques (Yao et al., 2022). Il convient de souligner que ces lâchers ont été effectués dans le cadre du renforcement des compétences des équipes locales et de la recherche, et non comme une mesure de lutte directe contre le paludisme (Yao et al., 2022).

### 3.4.2.3. En Afrique

En Afrique, la lutte génétique menées sous forme de recherche par "Target Malaria", un consortium international de recherche à but non lucratif. Ce consortium a pour objectif de développer et de partager des technologies génétiques innovantes, durables et économiques afin de réduire la transmission du paludisme en utilisant des moustiques génétiquement modifiés (77). Il réunissait des scientifiques africains basés au Burkina Faso, au Ghana, au Mali et en Ouganda. Actuellement, Target Malaria est présent au Ghana et en Ouganda (92). Les travaux de "Target Malaria" ont débuté en 2008 avec le développement d'un moustique mâle stérile, *Anopheles gambiae*, génétiquement modifié pour produire des mâles stériles en insérant de l'ADN codant pour I-PpoI, une endonucléase d'homing (HEG) provenant de la moisissure visqueuse *Physarum polycephalum* (26). Cette enzyme cible spécifiquement les séquences répétées d'ADNr sur le chromosome X (32).

Chez ces moustiques, l'expression de I-PpoI est contrôlée par le promoteur de la bêta2-tubuline, un gène de stérilité, qui est transcrit uniquement dans les testicules des mâles. L'endonucléase est transmise par le sperme au zygote, de sorte que les mâles hétérozygotes porteurs de cette construction ne produisent aucune descendance viable (24). En juillet 2019, une équipe scientifique de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé du Burkina Faso, en collaboration avec le consortium Target Malaria, a réalisé à Bana un lâcher à petite échelle d'environ 6400 moustiques génétiquement modifiés mâles stériles *Anopheles coluzzii* (figure11) (Yao et al., 2022).

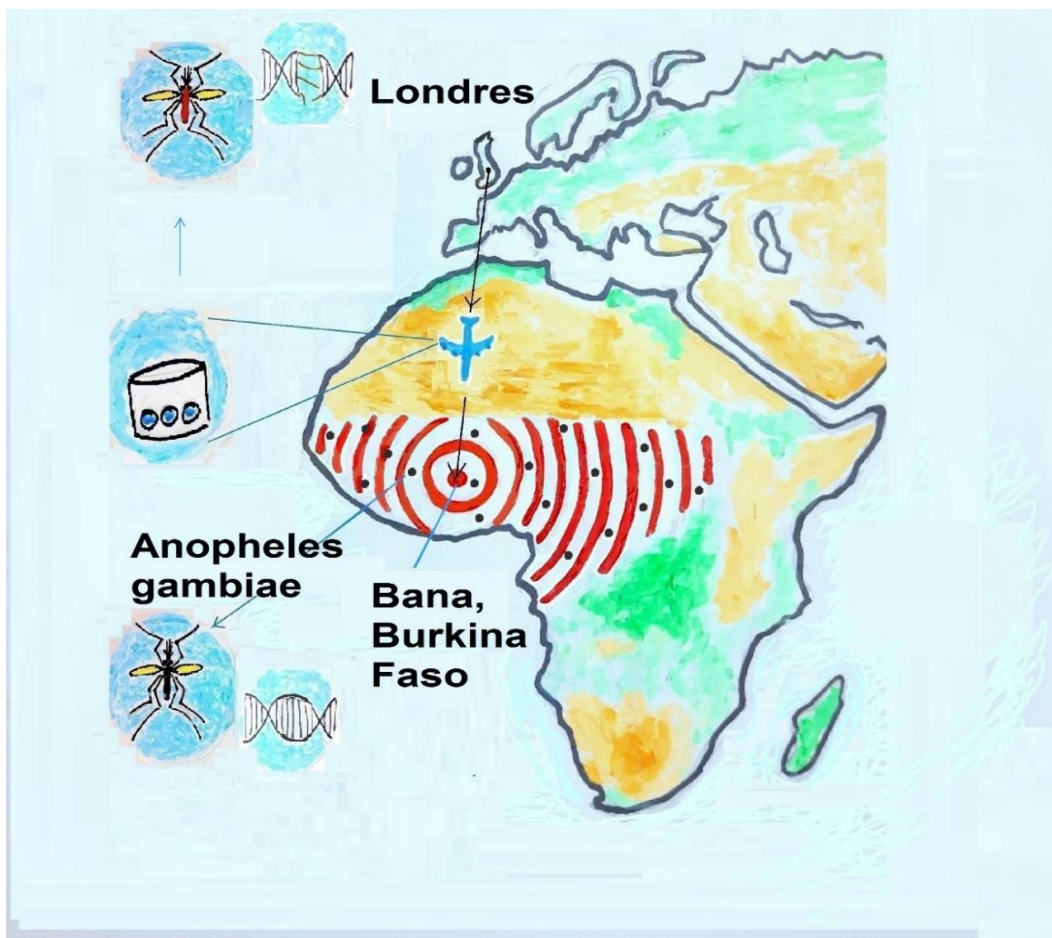


Figure 9. Lâchers des MGM au Burkina Faso (Bana)

<https://infogm.org/burkina-faso-le-projet-target-malaria-continue-malgre-les-irregularites>

Cette figure 6 montre le lâcher des moustiques (*anophèle*) génétiquement modifier au Burkina Faso dans le cercle de Bana.

Avant ce lâcher, plusieurs expériences avaient été conduites avec la souche de laboratoire au Burkina Faso. Les mêmes expérimentations, à l'exception du lâcher, ont également été réalisées

au Mali. Cette phase a permis aux deux pays, ainsi qu'au consortium, d'acquérir de nouvelles connaissances et de renforcer les capacités opérationnelles des équipes ("Au Burkina, MGM," 2019). Elle a aussi facilité l'engagement dans un dialogue avec les communautés locales impactées par les activités du projet, ainsi qu'avec les parties prenantes au niveau national et international (92).



# **Matériel et Méthodes**

## 4. Matériel et méthodes

### 4.1. Laboratoire d'étude

L'étude s'est déroulée à l'insectarium du laboratoire de transgénique du Centre de formation en entomologie médicale et des maladies infectieuses (IDMERTC) dans la Faculté de Médecine d'Odontostomatologie (FMOS) et de la faculté de pharmacie (FAPH) à l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ayant comme coordonnées géographiques (12.6685093, -7.9936132).

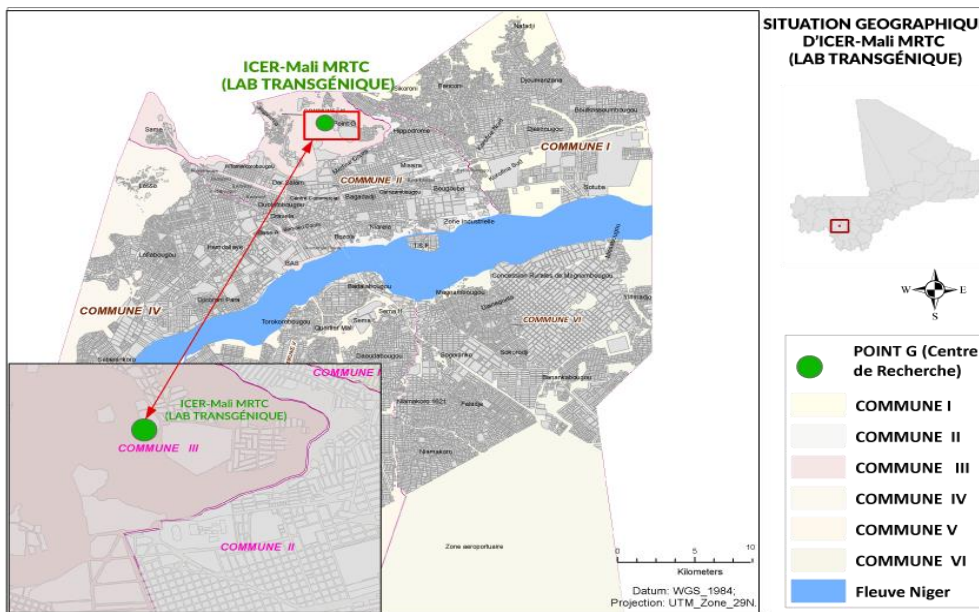


Figure 10. Situation géographique du laboratoire transgénique

Le laboratoire transgénique au Mali est un laboratoire de confinement d'arthropodes de niveau de sécurité 2 (ACL2), l'un des premiers en Afrique dédié à l'élevage de moustiques génétiquement modifiés. Ce laboratoire a été construit grâce à un partenariat entre le IDMRTC anciens MRTC (Malaria Research and training center) et l'université de Keele au Royaume-Uni, avec le soutien de la fondation Wellcome Trust, et a été inauguré le 3 août 2010.

Il a été renouvelé en 2015 et mis à niveau pour répondre aux normes ACL2 dans le cadre d'un partenariat avec Imperial Collège (Royaume-Uni), à travers un projet intitulé « Target Malaria ». Target Malaria est un consortium de recherche à but non lucratif dédié à la lutte contre le paludisme.

Le laboratoire est équipé d'un système de double porte qui ne peut pas être ouvert simultanément, garantissant ainsi l'accès uniquement au personnel autorisé. Le confinement est renforcé par des rideaux placés au niveau des portes. Des pièges lumineux sont installés dans le laboratoire, l'insectarium, ainsi que dans les deux petits vestibules (SAS). Lors de l'ouverture des portes, des ventilateurs situés dans chaque SAS se mettent automatiquement en marche pour empêcher les moustiques de s'échapper (figure 10).

L'insectarium se compose de plusieurs zones : une petite salle pour le gorgement des moustiques, une autre petite salle pour l'élevage des moustiques locaux non modifiés, et une grande salle pour l'élevage des moustiques génétiquement modifiés. Les moustiques non modifiés et modifiés soient maintenus dans des salles séparées, toutes ces zones sont soumises aux mêmes conditions environnementales : photo périodicité de 12 heures de jour et 12 heures de nuit, température de  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , et humidité relative de  $80\% \pm 10\%$ .



Figure 11. Plan du laboratoire transgénétique, coupe transversale. Source : laboratoire transgénétique

## 4.2. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude expérimentale réalisée au laboratoire(ACL2), effectué sur 23 générations de moustiques retrocroisées avec AC(DSM)2. Elle a été menée de septembre 2019 à janvier 2021.

## 4.3. Population d'étude

Notre étude a inclus deux souches d'*Anopheles* :

### a) *Anopheles coluzzii* de type sauvage (Wild-type) :

Cette souche locale provient de Ouassorola et Sogolombougou, dans le cercle de Kati, région de Koulikoro. Portant le nom de Ac(WT), la souche a été établie en octobre 2013 et est maintenue dans le laboratoire.

### b) Souche de moustique transgénique du genre *Anopheles coluzzii* :

Porteuse d'une modification génétique conférant une stérilité dominante chez les mâles, cette souche est désignée sous le nom Ac(DSM)2 « *Anopheles coluzzii* « Dominant Sterile Males ». La lignée Ac(DSM)2 a été développée par introgression en croisant des femelles transgéniques *Anopheles gambiae* issues de la souche de laboratoire « G3 » avec des mâles locaux originaires du Mali. Cette souche modifiée, nommée Ag(DSM)2 pour « *Anopheles gambiae* Dominant Stérile Mâles », tire son nom du type de moustiques modifiés et du site d'insertion du transgène. La souche Ag(DSM)2 a été importée depuis le laboratoire Target Malaria situé à Terni, en Italie. Initialement, cette souche transgénique a été introduite sous forme d'œufs au laboratoire, après obtention d'une autorisation officielle (arrêté N°2019 1563/MEADD-SG du 21 juin 2019). La souche Ac(DSM)2 a été maintenue dans l'insectarium par des rétrocroisements (backcross, BC) entre les femelles Ac(DSM)2 et les mâles Ac(WT). Ce processus génère deux types de descendants :

- Des moustiques transgéniques, porteurs du transgène et du marqueur fluorescent détectable DsRed,
- des moustiques non transgéniques, dépourvus du marqueur DsRed.

Les moustiques transgéniques, mâles et femelles possèdent le même transgène, mais la stérilité est spécifiquement exprimée dans les gonades des mâles, rendant leur sperme non fertile. Ces moustiques transgéniques se distinguent par :

- une fluorescence rouge (DsRed) visible dans les tissus nerveux, aussi bien chez les mâles que chez les femelles ;
- une fluorescence verte (GFP, Green Fluorescent Protein) localisée dans les testicules, uniquement chez les mâles.

Pour chaque génération rétrocroisée, les traits d'histoire de vie ont été suivis régulièrement, depuis la ponte des œufs jusqu'à l'émergence des adultes, afin d'évaluer les caractéristiques biologiques des moustiques Ac(DSM)2.

#### **4.4. Déroulement des expériences**

Après l'introgession des femelles Ag(DSM)2, issues de la souche G3, avec des mâles locaux Ac(WT) originaires du Mali, une nouvelle lignée Ac(DSM)2 a été obtenue.

Les expériences ont débuté par le tri des nymphes, suivi de la mise en place des différentes cages expérimentales. La lignée transgénique Ac(DSM)2 a été subdivisée en deux sous-colonies, A et B. De la même manière, la colonie de type sauvage Ac(WT) a également été divisée en deux sous-colonies, A et B.

Pour chaque rétrocroisement, les sous-colonies d'Ac(DSM)2 ont été croisées avec des mâles issus de sous-colonies alternatives de type sauvage. Une fois le tri des nymphes effectué, les pots contenant les nymphes ont été placés dans les différentes cages correspondantes

##### **4.4.1. Établissement des cages expérimentales**

Des cages expérimentales de 30 × 30 × 30 cm ont été mises en place. Elles consistaient à introduire des nymphes femelles Ac(DSM)2 avec des mâles Ac(WT), en effectifs variant de 152 à 604 individus par génération, selon un ratio de 1:1 (Figure 12). Pour chaque rétrocroisement, les sous-colonies d'Ac(DSM)2 ont été croisées avec des mâles issus de sous-colonies alternatives de type sauvage.

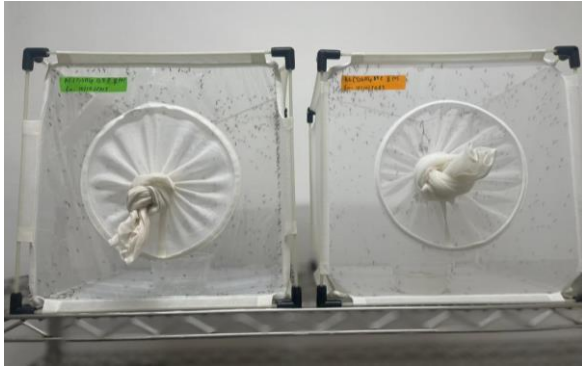


Figure 12. Cage contenant les femelles *Ac(DSM)2* et mâles *Ac(WT)* retrocroisées

Afin d'assurer le maintien des adultes, un repas sucré composé de 10 % de saccharose et 0,1 % de méthyl parabène (méthyl 4-hydroxybenzoate) a été fourni à l'aide d'un tube Falcon® recouvert d'un tissu à mailles très fines (figure 13).

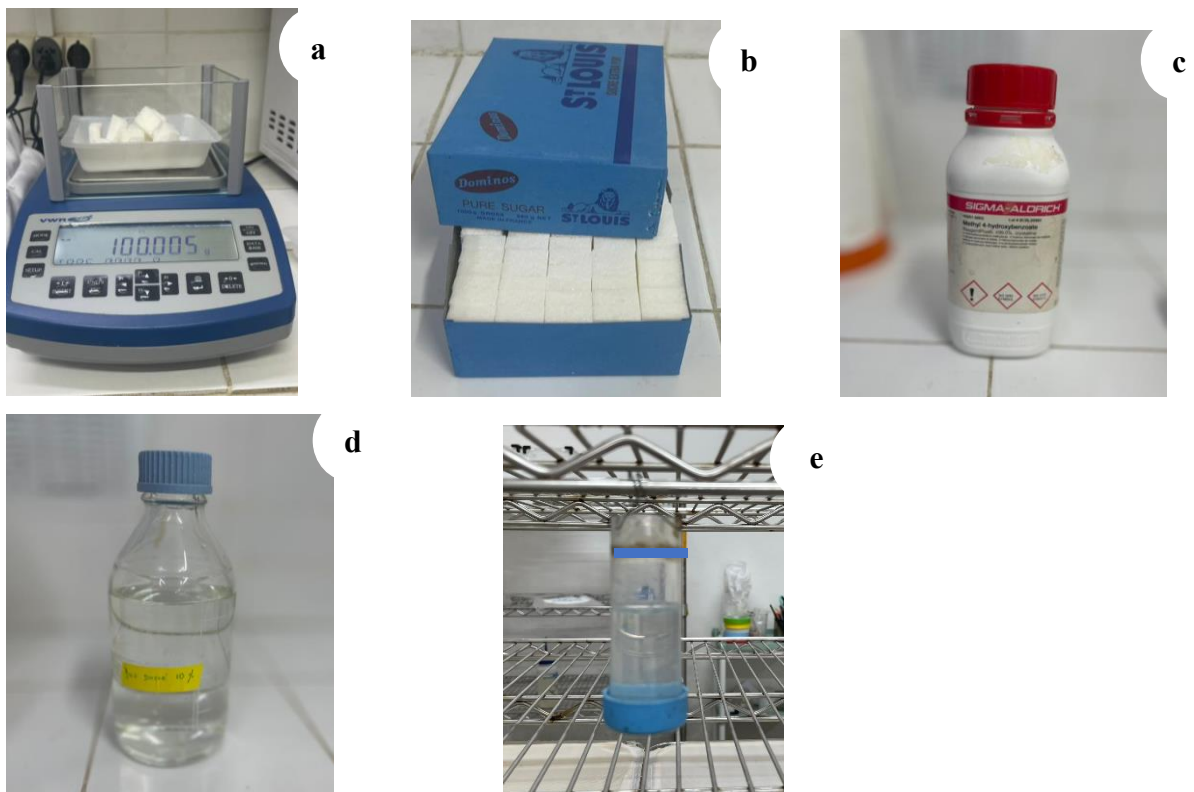


Figure 13. Processus de préparation du jus

Balance(a), sucre(b), methyl4-hydroxybenzoate(c), jus 10%(d), tube falcon recouverte d'un tissu a maille(e)

Ce dispositif(e), suspendu dans les cages, permettait aux moustiques de s'alimenter à travers le tissu. La solution sucrée a été distribuée pendant trois jours avant le gorgement sanguin, afin de maximiser les chances d'accouplement avant la mise en ponte.

#### 4.4.2. Gorgement

Les moustiques ont été gorgé à l'aide du système de gorgement « Hemotek Membrane Feeding System » (Hemotek Ltd). Cet appareil (A) se compose de six plaques en aluminium, chacune recouverte d'une membrane de collagène (Parafilm) remplie environ 2 ml de sang de groupe O+ maintenu à température constante de 37°C grâce à un élément chauffant électrique (figure 14-15).

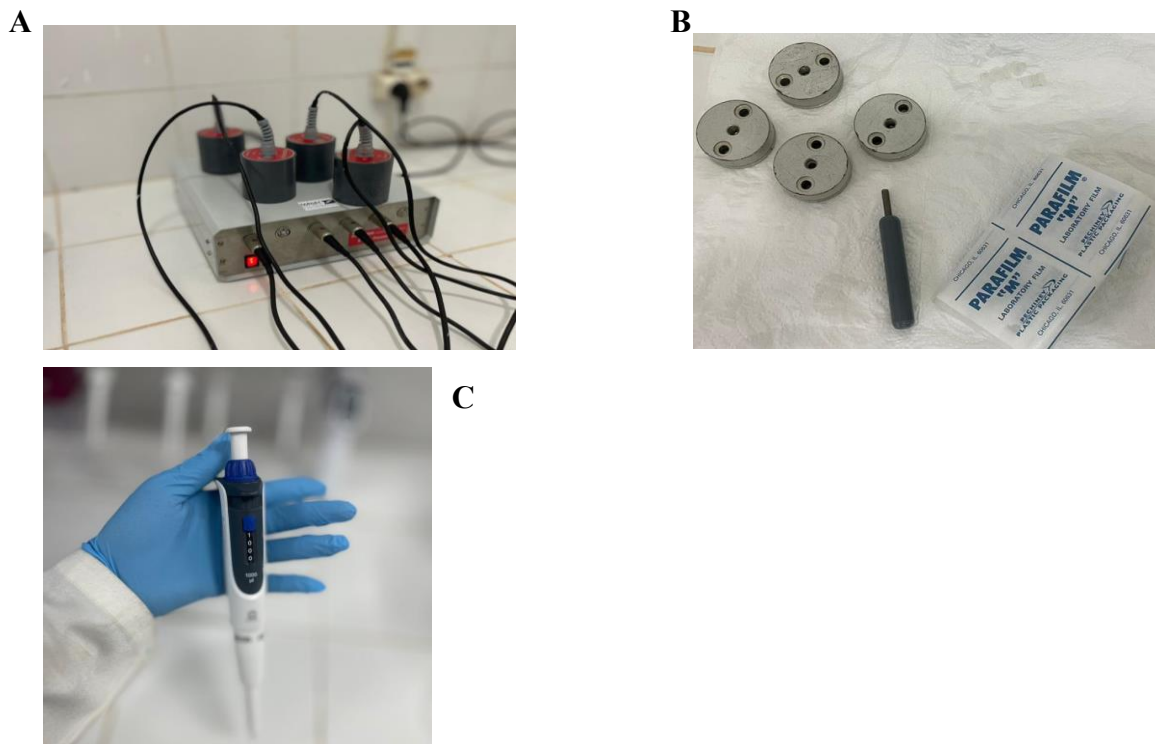
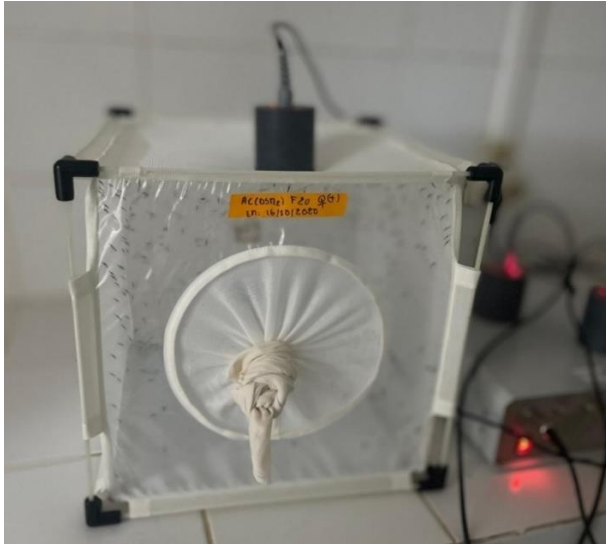


Figure 14: processus de gorgement

Hemotek membrane feeding(A), disque et parafilm(B), les pipettes (C)



*Figure 15. Gorgement des moustiques*

Après le gorgement, les disques du système, contenant le sang, ont été retirés, nettoyés et rincés à l'eau du robinet. Ils ont ensuite été désinfectés après 1h de temps dans une solution d'eau javellisée à 1 %. Enfin, pour éliminer tout résidu de chlore, les disques ont été rincés une seconde fois à l'eau du robinet, puis conservés en vue d'une utilisation ultérieure.

#### **4.5. Détermination de la fécondité et la fertilité des femelles AC(DSM)2**

##### **4.5.1. Fécondité**

La fécondité est le nombre des œufs pondues par les femelles. Pour chaque repas de sang et pour chaque cage, des cohortes distinctes d'œufs ont été collectées.

##### **4.5.1.1. Mise en ponte et collecte des œufs**

Le cycle gonotrophique, correspondant au temps nécessaire à la digestion du sang et à la maturation des œufs a duré deux jours. Un pondoir a été préparé en utilisant un papier buvard de types Whatman® humidifié avec de l'eau du robinet, déposé dans une boîte de Pétri. Pour prévenir un dessèchement rapide, un chiffon imbibé d'eau a été placé sous le papier buvard (figure 16).



1



2

Figure 16. Mise en place du pondoir

#### Constitution du pondoir (1) et pondoir (2)

Ce pondoir a été introduit dans les cages 48 heures après le gorgement des femelles pour la collecte des œufs. Le jour suivant, à l'aide d'une pince les adultes morts ont été retirés du pondoir afin de préparer les œufs pour le comptage.

#### 4.5.1.2. Comptage des œufs

Une photographie haute résolution des œufs déposés sur le papier a été réalisée à l'aide d'un appareil photo numérique, puis transférée sur un ordinateur. L'image numérique a ensuite été analysée à l'aide du logiciel Egg-Counter version1 afin d'obtenir le nombre d'œufs (94) (figure17).



Figure 17. Les œufs des moustiques

## 4.5.2. Fertilité

La fertilité est le nombre d'œufs éclos. Pour chaque cage, des cohortes distinctes d'œufs ont été collectées.

### 4.5.2.1. Lavage des œufs

Après la photographie des œufs, ils ont été transférés sur un papier buvard circulaire placé sur un système de filtration de type Millipore® connecté à une pompe de type Laboport®, modèle N 86 KT.18. Les œufs ont été désinfectés avec une solution d'eau chlorée à 1 %, comme décrit à l'annexe 3 (figure18).



Figure 18. Lavage des œufs avec du javel 1% sources ACEME

### 4.5.2.2. Conditionnement des œufs

Après désinfection, dans un plateau contenant 500 ml d'eau de robinet et dont la bordure était collée de papier buvard, les œufs étaient transférés dans un flotteur placé au milieu du plateau (figure19).



Figure 19. Mise en place des œufs dans les flotteurs après nettoyage

Les plateaux ont été maintenus pendant 48 heures dans les conditions de l'insectarium pour l'éclosion des œufs.

#### 4.5.2.3. Fertilité

Après l'éclosion des œufs, une partie du papier buvard a été découpée, un échantillon d'environ 200 coquilles d'œufs a été inspecté à la loupe binoculaire pour compter les œufs éclos et les œufs non éclos (figure 20).



Figure 20. Inspection à la loupe binoculaire

Loupe binoculaire (1), coquille des œufs éclos et les œufs non éclos (2), compteur (3)

#### 4.6. Détermination du temps de développement larvaire des moustiques Ac(DSM)2 :

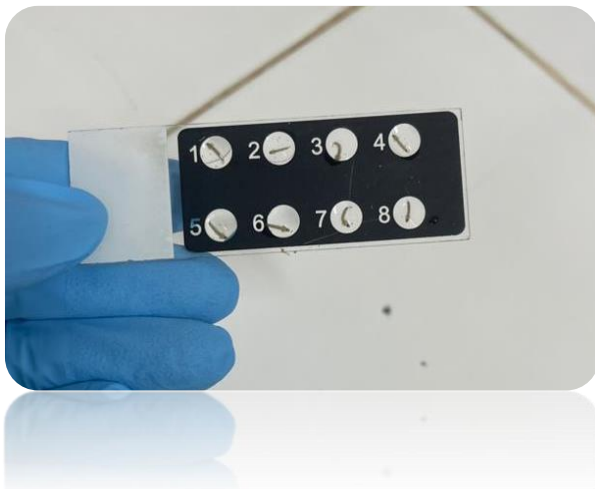
Le temps de développement larvaire correspond à l'intervalle entre la date d'éclosion des œufs et la date de passage au stade nymphal.

##### 4.6.1. Établissement des plateaux

Les larves de stade L1 étaient réparties dans différents plateaux, contenant chacun 500 ml d'eau et 5 ml de nourriture Koi.Food® concentré a 2%. Après 48 heures, les larves atteignaient le stade L2 où 5 ml supplémentaires de nourriture étaient ajoutés. Aux stades L3 et L4, 10 ml de nourriture était donné de façon quotidienne.

##### 4.6.2. Tri des larves

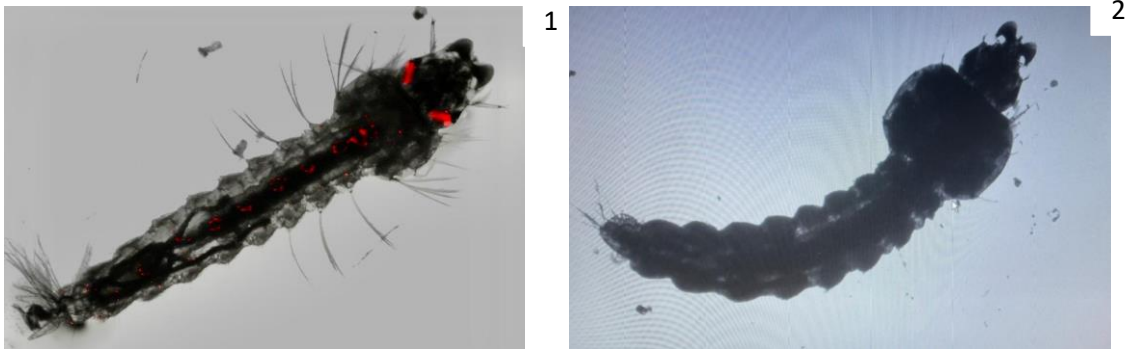
Les larves transgéniques ont été distinguées des non-transgéniques aux stades larvaires L3 et L4. Pour cela, chaque larve a été placée individuellement dans un puits (format 8 puits) sur une lame de microscope (référence ER-201B-CE24, diamètre 6 mm) (figure21), en utilisant une quantité minimale d'eau. L'observation a été réalisée à l'aide d'une loupe (QUO-41540\_H7N6Z9) à fluorescence afin de vérifier la présence ou l'absence du marqueur DsRed dans les yeux.



*Figure 21. Processus de tri des larves*

*Photo de la lame à 8 puits et la loupe à fluorescence*

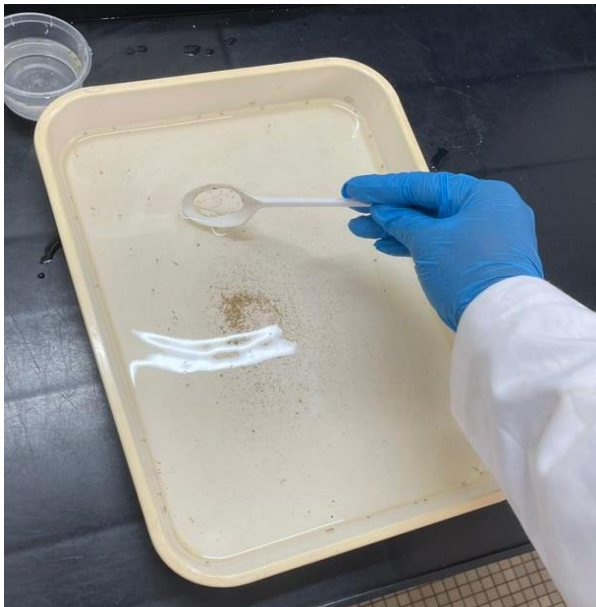
À l'aide d'une pipette Pasteur, les larves exprimant le DsRed (présence de fluorescence rouge au niveau des yeux) ont été triées des larves ne l'exprimant pas (absence de fluorescence rouge). Les larves ont ensuite été regroupées selon leur statut (positif ou négatif) dans les plateaux distincts et étiquetés en conséquence avant le tri des nymphes.



*Figure 22. Larve génétiquement modifiée<sup>1</sup> et larve non génétiquement modifiée<sup>2</sup>*

#### **4.6.3. Collecte des nymphes**

La collecte des nymphes a été réalisée quotidiennement, à partir du premier jour de nymphose jusqu'à l'obtention de l'ensemble des nymphes (figures 23).



*Figure 23. Collecte des nymphes*

Le taux de développement moyen a ensuite été calculé pour chaque nymphe, en considérant l'intervalle compris entre la date d'éclosion des œufs et la date de collecte de la dernière nymphe.

Pour chaque cohorte, la durée de développement moyenne a été générée pour toutes les nymphes appartenant à chacune des quatre catégories : femelles positives, mâles positifs, femelles négatives, mâles négatifs.

#### 4.7. Rapport de sexe lors de tri des nymphes

##### 4.7.1. Séparation des nymphes

Dès leur apparition, les nymphes issues des cages de rétrocroisement de Ac(DSM)2 ont été régulièrement examinées afin de déterminer leur sexe au stade nymphal. Les nymphes ont été collectées et triées par sexe à l'aide d'une loupe binoculaire. Ce tri a été réalisé individuellement en observant la partie terminale de l'abdomen (Figure 24).



Figure 24. Photo des nymphes ; (1) nymphe femelle et (2) nymphe mâle

Une fois triées, les nymphes ont été transférées dans des pots distincts selon leur sexe et leur statut transgénique : mâles positifs, femelles positives, mâles négatifs et femelles négatives (figure 25).

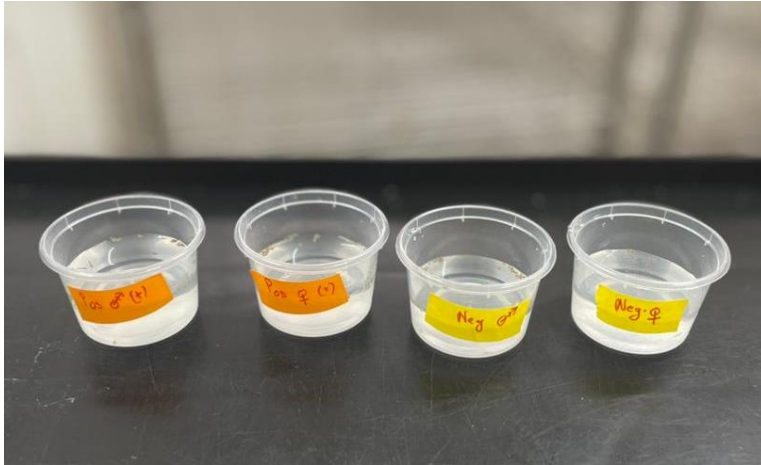


Figure 25. Pots de nymphe selon leur sexe et leur statut transgénique

Après cette étape, les pots de nymphes ont été introduit dans les différentes cages adaptées pour l'émergence des adultes. Ce processus a été répété jusqu'à la dernière collecte de nymphe.

#### 4.8. Emergence des adultes

À l'issue du sexage, les nymphes ont été réparties en quatre catégories placées dans des pots de nymphes distinctes et introduit dans différentes cages. Les quatre catégories de cages (femelles positives, mâles positifs, mâles négatifs et femelles négatives) ont été maintenues dans des cages individuelles séparées, clairement identifiées par des étiquettes. Toute la période d'émergence, une vérification quotidienne des adultes a été effectuée afin de s'assurer qu'aucun individu (mâle ou femelle) ne se trouvait dans une cage inappropriée.

Le taux d'émergence est le rapport entre le nombre de moustiques émergés sur le nombre de nymphes introduites dans la cage, le tout multiplié par cent.

$$\text{Taux d'emergence} = \frac{\text{nombre d'adultes émergés}}{\text{nombre total de nymphes}} \times 100$$



*Figure 26. Image de deux moustiques adultes An. Coluzzii mâle et femelle*

Les femelles positives ont ensuite été retrocroisées avec les mâles Ac(WT) et ce processus a été répété jusqu'à 23 génération.

#### **4.9. Analyses statistiques**

Les données ont été enregistrées dans les registres de laboratoire, puis saisies dans Excel 2019 avant d'être analysées à l'aide du logiciel JMP, version 15.

A decorative green scroll graphic with a light green background and a darker green border. The scroll is unrolled in the center, with the word 'Résultats' written in a large, bold, black serif font. The scroll has rounded corners and a small circular detail at the top right corner.

# Résultats

## 5. Résultats

### 5.1. Résultats globaux

Pour chaque génération de rétrocroisement, au moins deux cages de Ac(DSM)2 ont été mises en place, avec un nombre total de nymphes femelles variant entre 152 et 604 par cage jusqu'au 23<sup>ème</sup> générations et cela pendant 18 mois.

### 5.2. Fécondité et fertilité

#### 5.2.1. Fécondité

Le nombre d'œufs a été enregistré pour chaque cage et pour chaque repas de sang (figure 27). La fécondité a été estimée en calculant la moyenne du nombre d'œufs produits par femelle nymphe et par repas de sang.

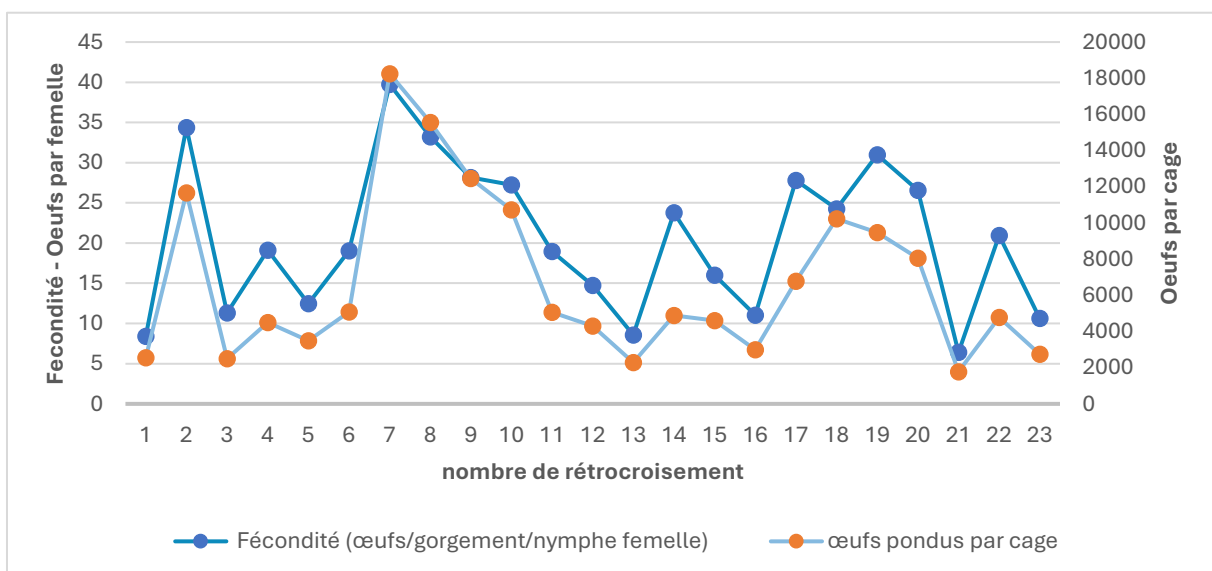


Figure 27. Fécondité et rendement en œufs par cage pour chaque rétrocroisement

Sur l'ensemble de l'étude, la fécondité globale variait de 6,4 à 39,7 avec une moyenne de 22,64 œufs par femelle et par repas de sang (SD = 1,28 ; n = 54).

### 5.2.2. Fertilité

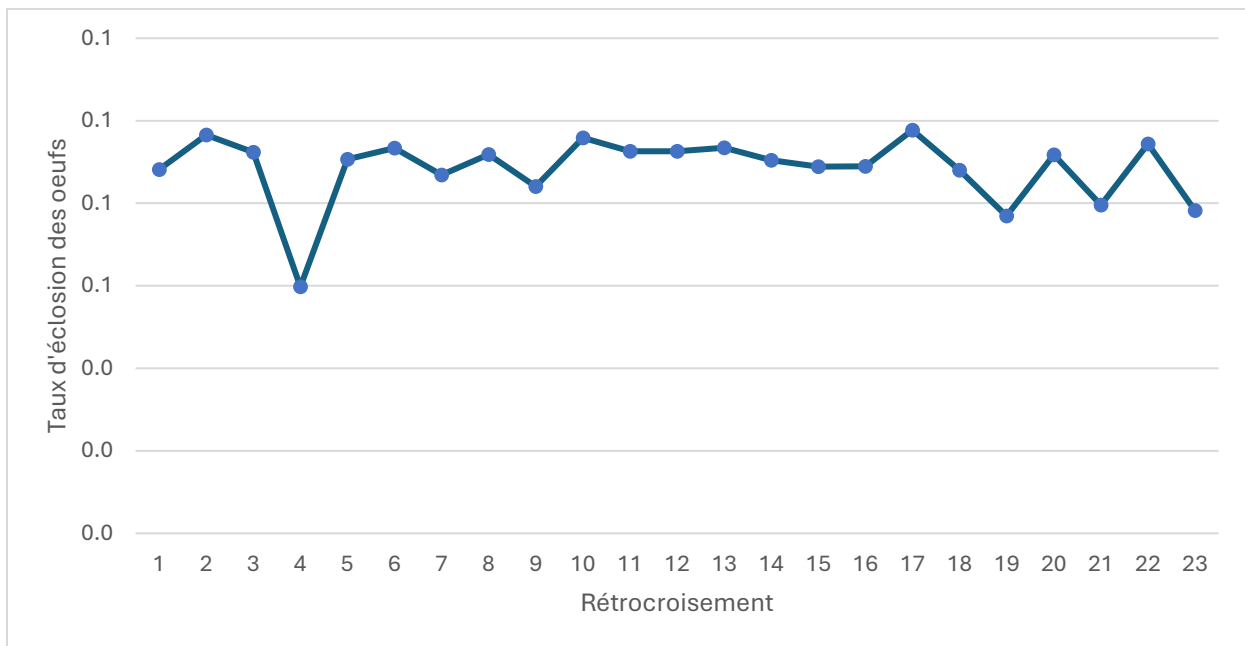


Figure 28. Taux d'éclosion moyen des œufs pour chaque rétrocroisement Barres d'erreur = Erreur type de moyenne

Le taux global d'éclosion des œufs s'est révélé relativement élevé, avec une moyenne de 88,39 % (SD = 1,29 %, n = 46). De plus, ce taux est resté relativement stable au fil du temps pour l'ensemble des générations rétrocroisées, à l'exception du quatrième rétrocroisement, où une baisse significative a été observée, avec un taux d'éclosion de 57 % (Figure 28).

### 5.3. Détermination du temps de développement larvaire

Le taux de développement larvaire a été calculé pour chaque ensemble de données issues du tri des nymphes provenant des cages de rétrocroisement de Ac(DSM)2. Pour chaque cohorte, la durée moyenne de développement a été déterminée pour chacune des quatre catégories : femelles positifs, mâles positifs, femelles négatives et mâles négatifs (il s'agit des positifs ou les négatifs au transgène).

La figure 29 présente le développement moyen des quatre catégories pour chaque rétrocroisement.

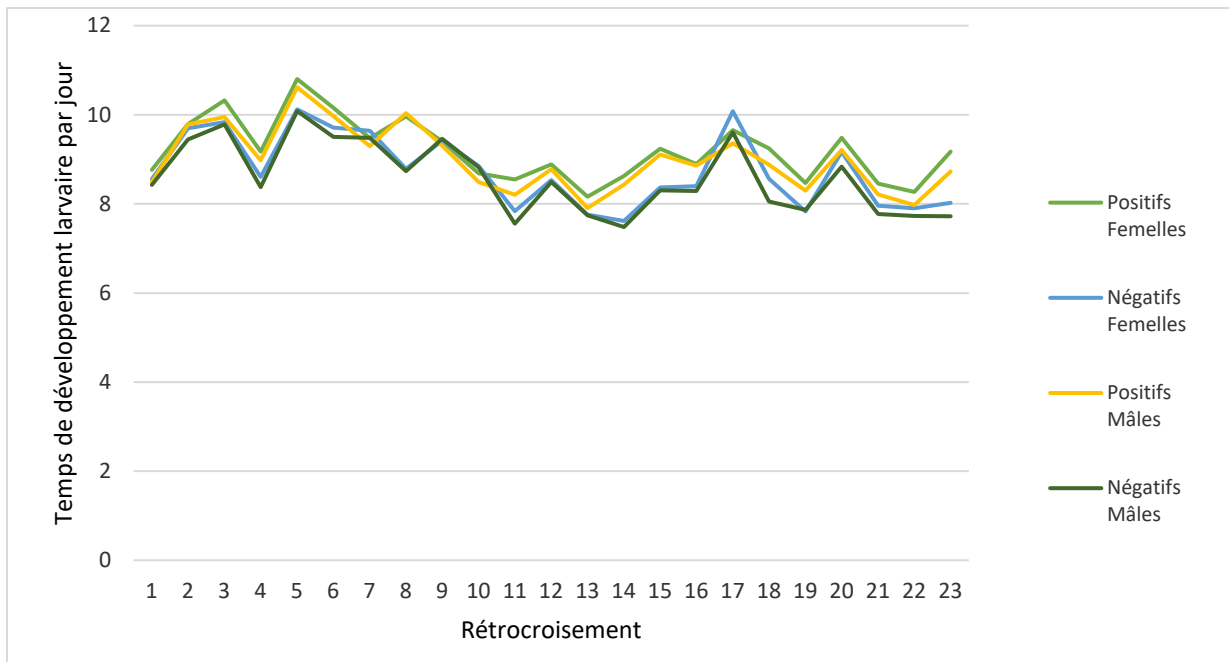


Figure 29. Temps moyen de développement larvaire pour chaque rétrocroisement selon les différentes catégories de larves

Aucune tendance évolutive n'a été observée au fil du temps, avec une moyenne globale de 8,88 jours (SD = 0,06, n = 184) pour toutes les catégories. Cependant, des variations ont été constatées entre les rétrocroisements, avec des valeurs extrêmes de 7,8 jours (SD = 0,03, n = 2) et 10,38 jours (SD = 0,16, n = 2).

Un modèle linéaire généralisé (GLM) à effet mixte a été appliqué pour analyser les variations de durée de développement larvaire. Les effets fixes incluaient le sexe (mâle ou femelle) et l'état transgénique (positif ou négatif) (figure 30).

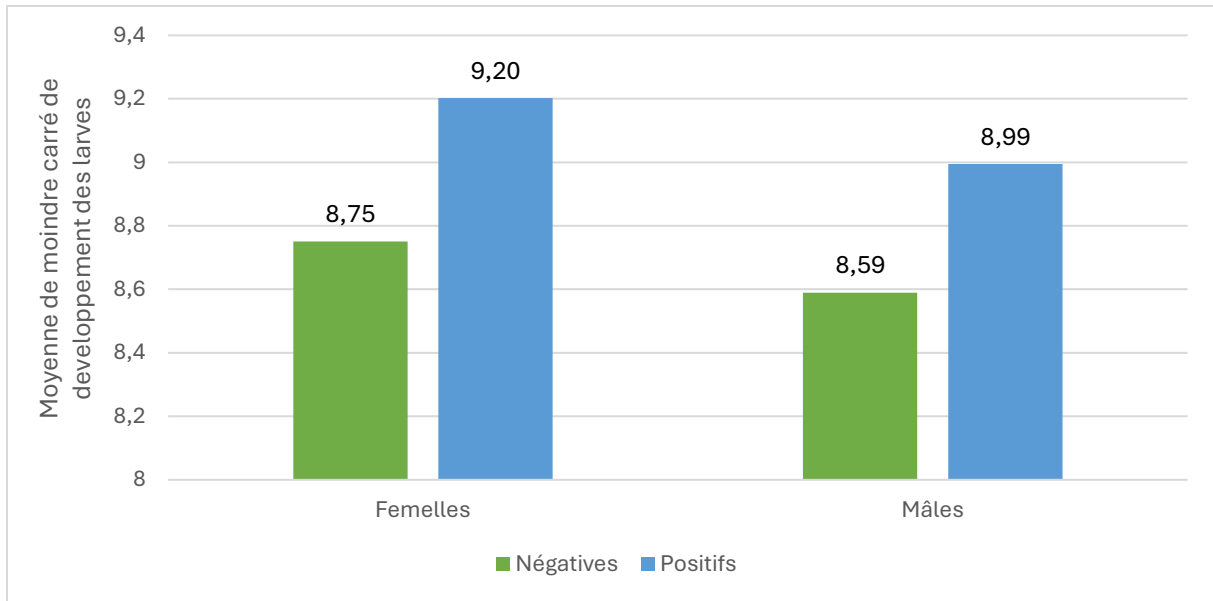


Figure 30. Moyenne de moindre carré de développement des larves pour toutes les catégories de larves

Les résultats de l'analyse montrent un effet significatif du sexe ( $p < 0,001$ ) et du transgène ( $p < 0,001$ ), mais aucune interaction significative entre les deux ( $p = 0,571$ ). La figure 30 illustre la durée moyenne estimée de développement larvaire pour les quatre catégories. Les larves transgéniques avaient une durée moyenne de développement de 9,1 jours, soit 5 % de plus que les larves non transgéniques (8,7 jours).

#### 5.4. Détermination de ratio de sexe lors tri des nymphes

La proportion de mâles et de femelles a été calculée pour les nymphes issues de chaque repas de sang et de chaque cage.

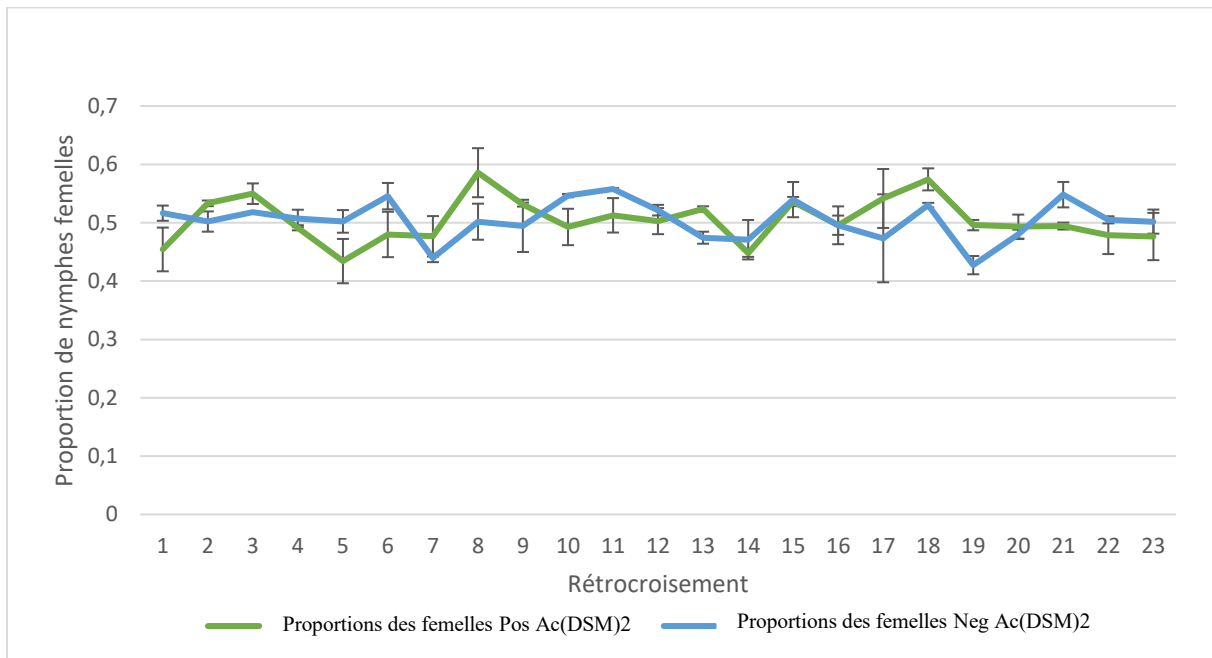


Figure 31. Proportion de femelles lors du tri des nymphes de Ac(DSM)2 pour chaque rétrocroisement

Le pourcentage moyen global de femelles parmi les nymphes Ac(DSM)2 positives était de 50,45 % (SD = 0,8 %, n = 46), tandis que celui des nymphes Ac(DSM)2 négatives était de 50,43 % (SD = 0,71 %, n = 46). De plus, la proportion de femelles est restée stable et conforme à l'attendu (environ 50 %) pour l'ensemble des rétrocroisements au fil du temps (figure31).

#### 5.5. Détermination du taux d'émergence

Le taux d'émergence a été calculé pour chaque ensemble de données issues du tri nymphal des cages de rétrocroisement Ac(DSM)2. Pour chaque cohorte, la proportion d'adultes ayant émergé des nymphes (taux d'émergence) a été déterminée pour les quatre catégories : femelles positives, mâles positifs, femelles négatives et mâles négatifs.

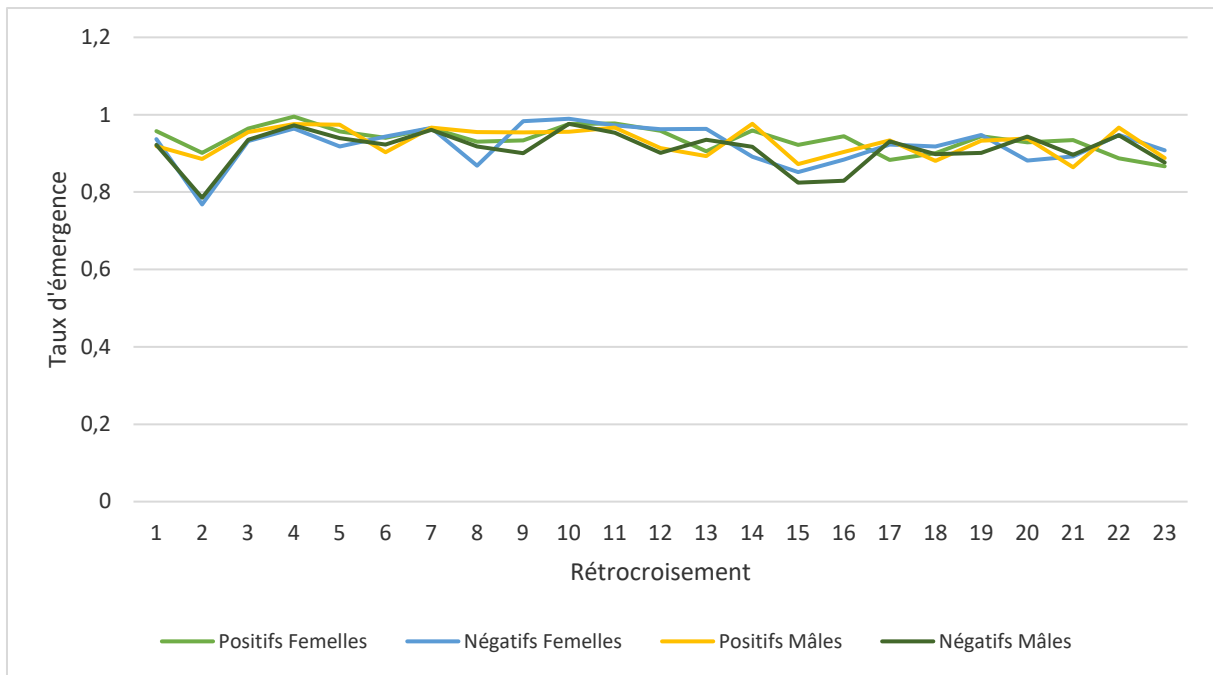


Figure 32. Évolution du taux d'émergence pour chaque rétrocroisement selon les différentes catégories de nymphes

Globalement, le taux d'émergence est resté stable tout au long de l'étude. La figure 32 illustre le taux d'émergence moyen des quatre catégories pour chaque rétrocroisement, avec une moyenne globale de 92,51 % (SD = 0,004, n = 184).

Un modèle linéaire généralisé (GLM) à effet mixte a été appliqué aux données binaires d'éclosion (éclos ou non éclos), en utilisant une transformation logit de la proportion éclos comme variable. Les effets fixes incluaient le sexe (mâle ou femelle) et l'état transgénique (positif ou négatif) ( figure33)

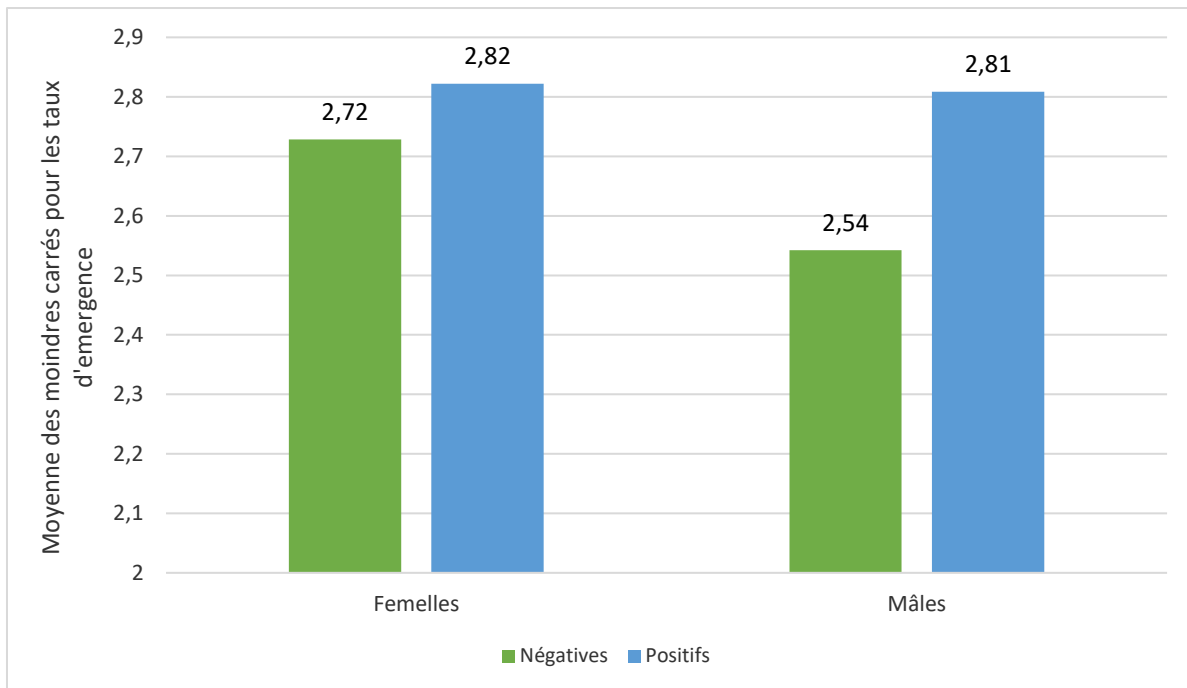


Figure 33. Moyenne des moindres carrés pour les taux d'émergence (logit) des différentes catégories de nymphes

Les résultats de l'analyse GLM n'ont montré aucun effet significatif de l'interaction entre le sexe et le statut transgénique ( $p = 0,257$ ), ni du sexe seul ( $p = 0,327$ ). Cependant, un effet significatif du statut transgénique a été observé ( $p = 0,0426$ ), avec un taux d'émergence légèrement supérieur pour les nymphes transgéniques positives (93,3 %) par rapport aux nymphes négatives (91,8 %). La figure 33 présente la courbe des moindres carrés pour les résultats modélisés (logit de la proportion éclos). On observe que, quel que soit le sexe, les nymphes positives présentent un taux d'émergence plus élevé que les nymphes négatives.

A decorative green scroll graphic with a light green background and a dark green border. The scroll is unrolled in the center, with the ends of the scroll visible on the left and right sides. The text is centered within the unrolled portion.

# **Commentaires et discussion**

## **6. Commentaires et discussion**

### **6.1. Fécondité et fertilité**

#### **6.1.1. Fécondité**

Sur les 23 générations rétrocroisées, la fécondité a varié de 6,4 à 39,7 œufs, avec une moyenne de 22,64 œufs pondus par femelle transgénique. Cela suggère que, malgré cette variabilité intergénérationnelle, la fécondité globale des femelles transgéniques est restée relativement stable. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par (95) qui ont obtenu dans leur étude sur l'introgession d'un transgène synthétique de distorsion du sex-ratio chez *Anopheles coluzzii* une fécondité de 22,1.

#### **6.1.2. Fertilité**

Durant la période d'étude, le taux d'éclosion était de 88,39% (SD= 1,29 %, n = 46). Ce taux est resté stable sur les 23 générations de rétrocroisement à exception de la quatrième génération où une baisse allant jusqu'à 57% a été observée. Cette baisse peut être expliquée par le fait que seulement un jour a été donné pour l'éclosion des œufs au lieu de deux jours habituellement.

Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude sont comparables à ceux rapportés par (14) en Afrique de Sud et ceux de (42) en Italie, qui ont retrouvés respectivement un taux d'éclosion de 88,1 % et 89,6 % sur une souche fluorescente d'*Anopheles arabiensis* et une souche d'*Anopheles coluzzii* dont le sexe ratio est biaisé.

### **6.2. Temps de développement larvaire**

La durée moyenne globale du développement larvaire, toutes catégories confondues, était de 8,88 jours (SD = 0,06 ; n = 184). Cependant, cette durée variait selon les rétrocroisements, atteignant une moyenne minimale de 8,5 jours (SD = 0,40 ; n = 8) et une moyenne maximale de 10,5 jours (SD = 0,64 ; n = 8). Ces variations observées entre les rétrocroisements ont affecté de manière similaire toutes les catégories de larves et ont été attribuées aux fluctuations de la température dans l'insectarium.

Le temps de développement larvaire a été analysé afin d'évaluer l'effet potentiel du transgène et du sexe sur la croissance des larves issues des rétrocroisements de la lignée Ac(DSM)2. En

moyenne, les larves transgéniques présentaient un développement plus long (9,1 jours) que les non transgéniques (8,7 jours), soit une augmentation d'environ 5 %. Ce retard de développement chez les transgéniques pourrait être lié à l'effet du transgène, un phénomène qui a été observé chez d'autres espèces, notamment chez *Aedes aegypti* (96).

De plus, les femelles ont systématiquement montré un développement légèrement plus long que les mâles, ce qui est cohérent avec les observations fréquentes chez de nombreuses espèces d'insectes, où les femelles investissent davantage dans leur développement corporel notamment chez : *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* et *Anopheles stephensi* (97).

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par (Marrelli et al., 2007), qui ont étudié des moustiques transgéniques réfractaire au parasite du paludisme et n'ont observé aucune différence significative dans le temps de développement larvaire entre les moustiques transgéniques et non transgéniques. Cependant, dans notre étude, une légère augmentation du temps de développement a été observée chez les larves transgéniques, suggérant que l'effet du transgène peut varier en fonction de la construction génétique spécifique et de son expression.

Dans l'ensemble, nos données s'intègrent bien dans le cadre des études antérieures montrant que les modifications génétiquement et les facteurs environnementaux peuvent engendrer des effets physiologiques subtils mais significatifs, susceptibles d'entraîner des répercussions sur la compétitivité des insectes en conditions naturelles.

### **6.3. Détermination de ratio des sexes lors tri des nymphes**

La détermination systématique du sexe au stade nymphal, fondée sur l'observation du dimorphisme sexuel de la partie caudale, constitue une méthode fiable pour le sexage précoce des moustiques, comme l'ont également rapporté (98) dans le cadre de travaux similaires sur les *Aedes aegypti* génétiquement modifiés. Cette approche standardisée garantit une identification reproductible et précise des sexes, indispensable pour les études de suivi des lignées transgéniques.

Les résultats obtenus montrent que la proportion moyenne de femelles chez les nymphes transgéniques Ac(DSM)2 était de 50,45 %, tandis qu'elle était de 50,43 % pour les nymphes non transgéniques. Cette absence de différence significative indique que l'introduction de la construction génétique DSM2 n'a pas altéré le ratio des sexes à ce stade du développement, un

critère essentiel pour garantir la stabilité et la viabilité des lignées transgéniques dans le cadre de programmes de lutte génétique (98).

La constance de la proportion de femelles autour de 50 % tout au long des rétrocroisements suggère que la transmission de la construction transgénique n'affecte ni la survie différentielle des sexes ni la ségrégation mendélienne attendue à ce stade. Cette stabilité est cohérente avec les observations précédentes de (99) qui ont montré que certaines insertions transgéniques peuvent être neutres sur les paramètres démographiques de base, tels que le ratio des sexes, à condition que l'insertion ne cible pas des loci sexuellement différenciés.

#### **6.4. Taux d'émergence**

L'analyse du taux d'émergence des nymphes issues des rétrocroisements de la lignée Ac(DSM)2 a montré une stabilité remarquable au fil du temps, avec une moyenne globale élevée de 92,51 % (SD = 0,004 ; n = 184). Cette constance est un indicateur de la qualité des conditions d'élevage et de la viabilité générale des lignées étudiées. Les données du taux d'émergence en fonction du sexe et du statut transgénique n'ont révélé que de faibles variations autour de cette moyenne.

L'application d'un modèle linéaire généralisé (GLM) à effets mixtes a permis de tester l'effet du sexe, du statut transgénique et de leur interaction sur le taux d'émergence. Bien que ni le sexe ( $p = 0,327$ ) ni l'interaction sexe  $\times$  statut transgénique ( $p = 0,257$ ) ne soient apparus comme significatifs, un effet statistiquement significatif du statut transgénique a néanmoins été détecté ( $p = 0,0426$ ). Les nymphes transgéniques ont montré un taux d'émergence légèrement supérieur (93,3 %) à celui des nymphes non transgéniques (91,8 %). Ce résultat, bien que modeste, est contre-intuitif au vu de l'hypothèse souvent avancée selon laquelle l'intégration d'un transgène peut induire un coût physiologique (fitness cost).

Cette observation est intéressante au regard de la littérature. En effet, plusieurs études ont souligné que l'introduction de transgènes peut entraîner une réduction du taux d'émergence, en raison de perturbations métaboliques ou de l'insertion dans des régions génomiques sensibles (99,100).



# **Conclusion et recommandations**

## **7. Conclusion et recommandations**

### **7.1. Conclusion**

Cette étude met en évidence l'importance d'une évaluation rigoureuse des traits d'histoire de vie des moustiques génétiquement modifiés sur une longue durée, allant jusqu'à 23 générations. Les paramètres étudiés notamment la fécondité, la fertilité, le temps de développement larvaire et le taux d'émergence ont montré une relative stabilité tout au long de l'étude. Ces résultats constituent un préalable essentiel avant toute application à grande échelle et soulignent la nécessité de poursuivre les recherches dans ce domaine.

### **7.2. Recommandations**

À la lumière des résultats obtenus dans cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux autorités

Encourager et renforcer l'engagement des partenaires techniques et financiers en faveur de la recherche et du développement de nouvelles stratégies innovantes de lutte antivectorielle.

Aux chercheurs

Poursuivre l'évaluation de ces lignées dans des conditions semi-naturelles et sur plusieurs générations, tout en maintenant des mesures strictes de confinement et une surveillance des paramètres biologiques, afin de garantir la stabilité, la sécurité et la pertinence de ces moustiques pour d'éventuelles applications futures dans les programmes de lutte antivectorielle.

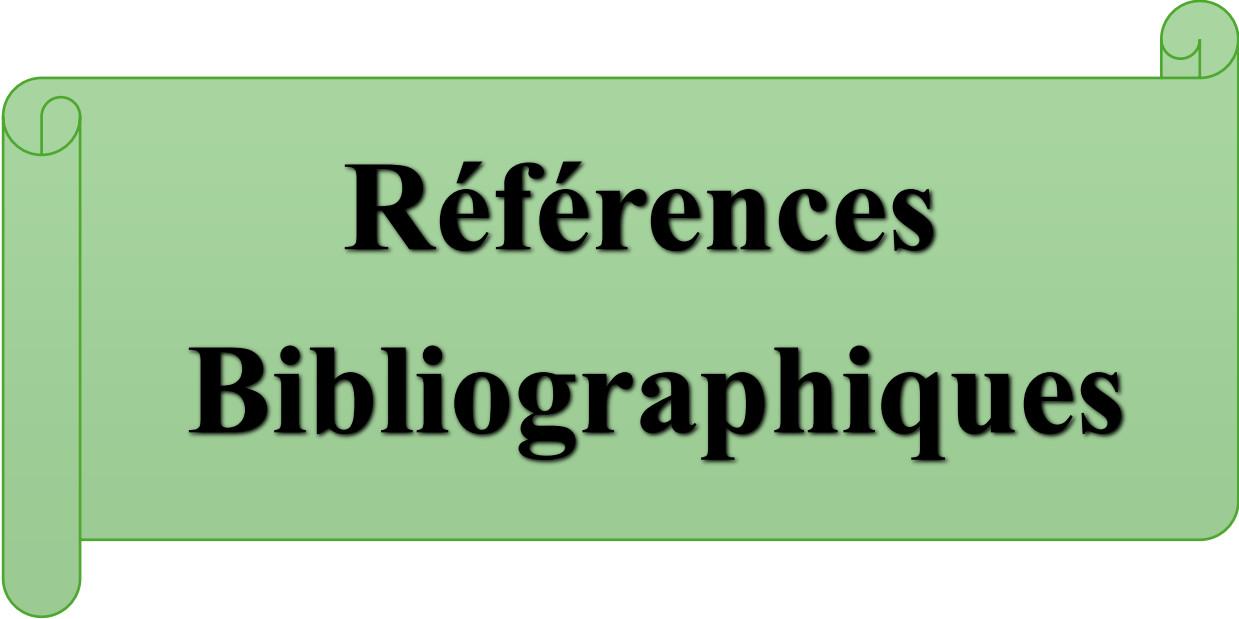
Aux régulateurs

Renforcer le cadre réglementaire et les protocoles de biosécurité

Mettre en place une évaluation à long terme des moustiques modifiés

### **Limite**

Parmi les limites de notre étude, figure l'absence d'une évaluation approfondie de la longévité des femelles Ac(DSM)2, un paramètre clé pour mieux comprendre leur survie.



# **Références Bibliographiques**

## 8. Références

1. Abbasi E. Innovative approaches to vector control: integrating genomic, biological, and chemical strategies. *Ann Med Surg.* 10 juin 2025;87(8):5003. doi:10.1097/MS9.0000000000003469 PubMed PMID: 40787530.
2. Despommier DD, Gwadz RW, Hotez PJ. Malaria: Plasmodium falciparum (Welch 1898), Plasmodium vivax (Grassi and Filetti 1889), Plasmodium ovale (Stephens 1922), Plasmodium malariae (Laveran 1881). In: *Parasitic Diseases* [Internet]. Springer, New York, NY; 1995 [cité 26 août 2024]. p. 174-89. Disponible sur: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4612-2476-1\\_29](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4612-2476-1_29) doi:10.1007/978-1-4612-2476-1\_29
3. Singh B, Sung LK, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, et al. A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings. *The Lancet.* 27 mars 2004;363(9414):1017-24. doi:10.1016/S0140-6736(04)15836-4 PubMed PMID: 15051281.
4. Muh F, Erwina A, Fitriana F, Syahada JH, Cahya AD, Choe S, et al. Plasmodium cynomolgi: What Should We Know? *Microorganisms.* août 2024;12(8):1607. doi:10.3390/microorganisms12081607
5. Raja TN, Hu TH, Kadir KA, Mohamad DSA, Rosli N, Wong LL, et al. Naturally Acquired Human Plasmodium cynomolgi and P. knowlesi Infections, Malaysian Borneo - Volume 26, Number 8—August 2020 - *Emerging Infectious Diseases journal - CDC* [Internet]. 2020. doi:10.3201/eid2608.200343
6. OMS. World malaria report 2025: Addressing the threat of antimalarial drug resistance. 2025.
7. PNLP-Mali | Programme National de Lutte contre le Paludisme du Mali [Internet]. [cité 10 juill 2024]. Disponible sur: <https://pnlp.ml/>
8. Spaans RH, Mkumbwa A, Nasoni P, Jones CM, Stanton MC. Impact of four years of annually repeated indoor residual spraying (IRS) with Actellic 300CS on routinely reported malaria cases in an agricultural setting in Malawi [Internet]. medRxiv; 2023 [cité 24 sept 2025]. p. 2023.07.18.23292843. Disponible sur: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.07.18.23292843v1> doi:10.1101/2023.07.18.23292843
9. Lecollinet S. Apprenons à vivre avec les moustiques [Internet]. 2022 [cité 9 oct 2024]. Disponible sur: <https://agritrop.cirad.fr/603258/1/ID603258.pdf>
10. Irish SR, Nimmo D, Bharmel J, Tripet F, Müller P, Manrique-Saide P, et al. A review of selective indoor residual spraying for malaria control. *Malar J.* 23 août 2024;23(1):252. doi:10.1186/s12936-024-05053-3
11. Gogoi A, Biswas SP. Native Larvivorous Fishes vs Alien Fishes: A Comparative Study of Biological Control of Mosquito Larvae. *UTTAR PRADESH J Zool.* 5 juin 2024;45(13):41-8. doi:10.56557/upjoz/2024/v45i134134

12. Moretti R, Lim JT, Ferreira AGA, Ponti L, Giovanetti M, Yi CJ, et al. Exploiting Wolbachia as a Tool for Mosquito-Borne Disease Control: Pursuing Efficacy, Safety, and Sustainability. *Pathog Basel Switz*. 14 mars 2025;14(3):285. doi:10.3390/pathogens14030285 PubMed PMID: 40137770; PubMed Central PMCID: PMC11944716.
13. Grilli S, Galizi R, Taxiarchi C. Genetic Technologies for Sustainable Management of Insect Pests and Disease Vectors. *Sustainability*. janv 2021;13(10):5653. doi:10.3390/su13105653
14. Ntoyi NL, Mashatola T, Bouyer J, Kraupa C, Maiga H, Mamai W, et al. Life-history traits of a fluorescent *Anopheles arabiensis* genetic sexing strain introgressed into South African genomic background. *Malar J*. 5 sept 2022;21(1):254. doi:10.1186/s12936-022-04276-6
15. Papathanos PA, Bourtzis K, Tripet F, Bossin H, Virginio JF, Capurro ML, et al. A perspective on the need and current status of efficient sex separation methods for mosquito genetic control. *Parasit Vectors*. 24 déc 2018;11(2):654. doi:10.1186/s13071-018-3222-9
16. Scavarda NJ, Hartl DL. Interspecific DNA transformation in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. déc 1984;81(23):7515-9. doi:10.1073/pnas.81.23.7515 PubMed PMID: 6095302; PubMed Central PMCID: PMC392177.
17. Curtis CF. Possible Use of Translocations to fix Desirable Genes in Insect Pest Populations. *Nature*. avr 1968;218(5139):368-9. doi:10.1038/218368a0
18. James A, Beerntsen B, Capurro M, Coates C, Coleman J, Jasinskiene N, et al. Controlling malaria transmission with genetically engineered, Plasmodium-resistant mosquitoes: Milestones in a model system. *Parassitologia*. 1 oct 1999;41:461-71.
19. Catteruccia F, Nolan T, Loukeris TG, Blass C, Savakis C, Kafatos FC, et al. Stable germline transformation of the malaria mosquito *Anopheles stephensi*. *Nature*. 22 juin 2000;405(6789):959-62. doi:10.1038/35016096 PubMed PMID: 10879538.
20. Grossman GL, Rafferty CS, Clayton JR, Stevens TK, Mukabayire O, Benedict MQ. Germline transformation of the malaria vector, *Anopheles gambiae*, with the piggyBac transposable element. *Insect Mol Biol*. 2001;10(6):597-604. doi:10.1046/j.0962-1075.2001.00299.x
21. Blandin S, Levashina EA. Paludisme: et si l'on soignait les moustiques? *médecine/sciences*. 1 août 2004;20(8-9):740-2. doi:10.1051/medsci/2004208-9740
22. L'OMS publie de nouvelles orientations pour la recherche sur les moustiques génétiquement modifiés afin de lutter contre le paludisme et d'autres maladies à transmission vectorielle [Internet]. [cité 23 mars 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news/item/19-05-2021-who-issues-new-guidance-for-research-on-genetically-modified-mosquitoes-to-fight-malaria-and-other-vector-borne-diseases>
23. Silva AP da. Les impacts du moustique transgénique sur l'homme et l'environnement. *Rev Científica Multidiscip Núcleo Conhecimento*. 15 nov 2020;09(10):158-76.

24. Tolosana I, Willis K, Gribble M, Phillimore L, Burt A, Nolan T, et al. A Y chromosome-linked genome editor for efficient population suppression in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Nat Commun.* 2 janv 2025;16(1):206. doi:10.1038/s41467-024-55391-8
25. D'Amato R, Taxiarchi C, Galardini M, Trusso A, Minuz RL, Grilli S, et al. Anti-CRISPR *Anopheles* mosquitoes inhibit gene drive spread under challenging behavioural conditions in large cages. *Nat Commun.* 1 févr 2024;15(1):952. doi:10.1038/s41467-024-44907-x
26. Kientega M, Morianou I, Traoré N, Kranjc N, Kaboré H, Zongo ON, et al. Genomic analyses revealed low genetic variation in the intron-exon boundary of the doublesex gene within the natural populations of *An. gambiae* s.l. in Burkina Faso. *BMC Genomics.* 18 déc 2024;25(1):1207. doi:10.1186/s12864-024-11127-y
27. Apte RA, Smidler AL, Pai JJ, Chow ML, Chen S, Mondal A, et al. Eliminating malaria vectors with precision-guided sterile males. *Proc Natl Acad Sci.* 2 juill 2024;121(27):e2312456121. doi:10.1073/pnas.2312456121
28. Khalil AM. The genome editing revolution: review. *J Genet Eng Biotechnol.* 29 oct 2020;18(1):68. doi:10.1186/s43141-020-00078-y
29. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science.* 28 nov 2014;346(6213):1258096. doi:10.1126/science.1258096
30. Pleydell DRJ, Bouyer J. Biopesticides improve efficiency of the sterile insect technique for controlling mosquito-driven dengue epidemics. *Commun Biol.* 29 mai 2019;2(1):201. doi:10.1038/s42003-019-0451-1
31. Klassen W. Gestion intégrée des ravageurs à l'échelle régionale et technique de l'insecte stérile. In: *Technique de l'insecte stérile.*
32. Windbichler N, Papathanos PA, Crisanti A. Targeting the X Chromosome during Spermatogenesis Induces Y Chromosome Transmission Ratio Distortion and Early Dominant Embryo Lethality in *Anopheles gambiae*. *PLOS Genet.* 5 déc 2008;4(12):e1000291. doi:10.1371/journal.pgen.1000291
33. Alphey L. Genetic Control of Mosquitoes. *Annu Rev Entomol.* 7 janv 2014;59(Volume 59, 2014):205-24. doi:10.1146/annurev-ento-011613-162002
34. Galizi R, Doyle LA, Menichelli M, Bernardini F, Deredec A, Burt A, et al. A synthetic sex ratio distortion system for the control of the human malaria mosquito. *Nat Commun.* 10 juin 2014;5(1):3977. doi:10.1038/ncomms4977
35. Stoddard BL. Homing endonucleases from mobile group I introns: discovery to genome engineering. *Mob DNA.* 3 mars 2014;5(1):7. doi:10.1186/1759-8753-5-7
36. Thailayil J, Magnusson K, Godfray HCJ, Crisanti A, Catteruccia F. Spermless males elicit large-scale female responses to mating in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Proc Natl Acad Sci.* 16 août 2011;108(33):13677-81. doi:10.1073/pnas.1104738108

37. Kandul NP, Liu J, Sanchez C HM, Wu SL, Marshall JM, Akbari OS. Transforming insect population control with precision guided sterile males with demonstration in flies. *Nat Commun.* 8 janv 2019;10(1):84. doi:10.1038/s41467-018-07964-7 PubMed PMID: 30622266; PubMed Central PMCID: PMC6325135.
38. Alphey L, Nimmo D, O'Connell S, Alphey N. Insect Population Suppression Using Engineered Insects. In: Aksoy S, éditeur. *Transgenesis and the Management of Vector-Borne Disease* [Internet]. New York, NY: Springer; 2008 [cité 9 août 2024]. p. 93-103. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-0-387-78225-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-0-387-78225-6_8) doi:10.1007/978-0-387-78225-6\_8
39. Dandolo LC, Munhenga G, Kaiser ML, Koekemoer LL. Development of a genetic sexing strain of *Anopheles arabiensis* for KwaZulu-Natal, South Africa. *Med Vet Entomol.* 2018;32(1):61-9. doi:10.1111/mve.12264
40. Fasulo B, Meccariello A, Morgan M, Borufka C, Papathanos PA, Windbichler N. A fly model establishes distinct mechanisms for synthetic CRISPR/Cas9 sex distorters. *PLOS Genet.* 13 mars 2020;16(3):e1008647. doi:10.1371/journal.pgen.1008647
41. Burt A, Deredec A. Self-limiting population genetic control with sex-linked genome editors. *Proc R Soc B Biol Sci.* 25 juill 2018. Located at: world. doi:10.1098/rspb.2018.0776
42. Pollegioni P, North AR, Persampieri T, Bucci A, Minuz RL, Groneberg DA, et al. Detecting the population dynamics of an autosomal sex ratio distorter transgene in malaria vector mosquitoes. *J Appl Ecol.* 2020;57(10):2086-96. doi:10.1111/1365-2664.13702
43. Ricci I, Damiani C, Rossi P, Capone A, Scuppa P, Cappelli A, et al. Mosquito symbioses: from basic research to the paratransgenic control of mosquito-borne diseases. *J Appl Entomol.* 2011;135(7):487-93. doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01613.x
44. Bian G, Joshi D, Dong Y, Lu P, Zhou G, Pan X, et al. *Wolbachia* Invades *Anopheles stephensi* Populations and Induces Refractoriness to *Plasmodium* Infection. *Science.* 10 mai 2013;340(6133):748-51. doi:10.1126/science.1236192
45. Caragata EP, Dutra HLC, Moreira LA. Exploiting Intimate Relationships: Controlling Mosquito-Transmitted Disease with *Wolbachia*. *Trends Parasitol.* 1 mars 2016;32(3):207-18. doi:10.1016/j.pt.2015.10.011 PubMed PMID: 26776329.
46. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, et al. A *Wolbachia* Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and *Plasmodium*. *Cell.* 24 déc 2009;139(7):1268-78. doi:10.1016/j.cell.2009.11.042 PubMed PMID: 20064373.
47. Yen PS, Failloux AB. A Review: *Wolbachia*-Based Population Replacement for Mosquito Control Shares Common Points with Genetically Modified Control Approaches. *Pathogens.* mai 2020;9(5):404. doi:10.3390/pathogens9050404

48. Chen L, Xiao Q, Shi M, Cheng J, Wu J. Detecting Wolbachia Strain wAlbB in *Aedes albopictus* Cell Lines. *J Vis Exp JoVE*. 1 juin 2022;(184). doi:10.3791/63662 PubMed PMID: 35723456.
49. Gomes FM, Barillas-Mury C. Infection of anopheline mosquitoes with Wolbachia: Implications for malaria control. *PLOS Pathog*. 15 nov 2018;14(11):e1007333. doi:10.1371/journal.ppat.1007333
50. Gesto JSM, Ribeiro GS, Rocha MN, Dias FBS, Peixoto J, Carvalho FD, et al. Reduced competence to arboviruses following the sustainable invasion of Wolbachia into native *Aedes aegypti* from Southeastern Brazil. *Sci Rep*. 11 mai 2021;11(1):10039. doi:10.1038/s41598-021-89409-8
51. Hoffmann AA, Montgomery BL, Popovici J, Iturbe-Ormaetxe I, Johnson PH, Muzzi F, et al. Successful establishment of Wolbachia in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. *Nature*. août 2011;476(7361):454-7. doi:10.1038/nature10356
52. Ritchie SA, Hurk AF van den, Smout MJ, Staunton KM, Hoffmann AA. Mission Accomplished? We Need a Guide to the 'Post Release' World of Wolbachia for *Aedes*-borne Disease Control. *Trends Parasitol*. 1 mars 2018;34(3):217-26. doi:10.1016/j.pt.2017.11.011 PubMed PMID: 29396201.
53. Crawford JE, Clarke DW, Criswell V, Desnoyer M, Cornel D, Deegan B, et al. Efficient production of male Wolbachia-infected *Aedes aegypti* mosquitoes enables large-scale suppression of wild populations. *Nat Biotechnol*. avr 2020;38(4):482-92. doi:10.1038/s41587-020-0471-x PubMed PMID: 32265562.
54. Saridaki A, Bourtzis K. *Wolbachia* : plus qu'un simple bug dans les organes génitaux des insectes. *Curr Opin Microbiol*. 1 févr 2010; Host-microbe interactions: bacteria13(1):67-72. doi:10.1016/j.mib.2009.11.005
55. Burt A. Site-specific selfish genes as tools for the control and genetic engineering of natural populations. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 7 mai 2003. Located at: world. doi:10.1098/rspb.2002.2319
56. Burt A, Trivers R. *Genes in Conflict: The Biology of Selfish Genetic Elements* [Internet]. Harvard University Press; 2009 [cité 20 oct 2025]. Disponible sur: <https://www.degruyter-brill.com/document/doi/10.4159/9780674029118/html> doi:10.4159/9780674029118
57. Hickey WA, Craig GB. Genetic Distortion of Sex Ratio in a Mosquito, *Aedes Aegypti*. *Genetics*. juin 1966;53(6):1177-96. doi:10.1093/genetics/53.6.1177 PubMed PMID: 5958915; PubMed Central PMCID: PMC1211089.
58. Sweeny TL, Barr AR. Sex Ratio Distortion Caused by Meiotic Drive in a Mosquito, *Culex pipiens* L. *Genetics*. mars 1978;88(3):427-46. doi:10.1093/genetics/88.3.427 PubMed PMID: 17248804; PubMed Central PMCID: PMC1224591.
59. Windbichler N, Papathanos PA, Catteruccia F, Ranson H, Burt A, Crisanti A. Homing endonuclease mediated gene targeting in *Anopheles gambiae* cells and embryos. *Nucleic Acids Res*. 1 sept 2007;35(17):5922-33. doi:10.1093/nar/gkm632

60. Chan YS, Naujoks DA, Huen DS, Russell S. Insect Population Control by Homing Endonuclease-Based Gene Drive: An Evaluation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1 mai 2011;188(1):33-44. doi:10.1534/genetics.111.127506
61. Carballar-Lejarazú R, Ogaugwu C, Tushar T, Kelsey A, Pham TB, Murphy J, et al. Next-generation gene drive for population modification of the malaria vector mosquito, *Anopheles gambiae*. *Proc Natl Acad Sci*. 15 sept 2020;117(37):22805-14. doi:10.1073/pnas.2010214117
62. Connolly JB, Romeis J, Devos Y, Glandorf DCM, Turner G, Coulibaly MB. Gene drive in species complexes: defining target organisms. *Trends Biotechnol*. 1 févr 2023;41(2):154-64. doi:10.1016/j.tibtech.2022.06.013 PubMed PMID: 35868886.
63. Rabinovich RN, Drakeley C, Djimde AA, Hall BF, Hay SI, Hemingway J, et al. malERA: An updated research agenda for malaria elimination and eradication. *PLOS Med*. 30 nov 2017;14(11):e1002456. doi:10.1371/journal.pmed.1002456
64. Windbichler N, Menichelli M, Papathanos PA, Thyme SB, Li H, Ulge UY, et al. A synthetic homing endonuclease-based gene drive system in the human malaria mosquito. *Nature*. mai 2011;473(7346):212-5. doi:10.1038/nature09937
65. Kyrou K, Hammond AM, Galizi R, Kranjc N, Burt A, Beaghton AK, et al. A CRISPR-Cas9 gene drive targeting doublesex causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Nat Biotechnol*. nov 2018;36(11):1062-6. doi:10.1038/nbt.4245
66. Carballar-Lejarazú R, Dong Y, Pham TB, Tushar T, Corder RM, Mondal A, et al. Dual effector population modification gene-drive strains of the African malaria mosquitoes, *Anopheles gambiae* and *Anopheles coluzzii*. *Proc Natl Acad Sci*. 18 juill 2023;120(29):e2221118120. doi:10.1073/pnas.2221118120
67. Deredec A, Godfray HCJ, Burt A. Requirements for effective malaria control with homing endonuclease genes. *Proc Natl Acad Sci*. 25 oct 2011;108(43):E874-80. doi:10.1073/pnas.1110717108
68. Hammond A, Galizi R, Kyrou K, Simoni A, Siniscalchi C, Katsanos D, et al. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nat Biotechnol*. janv 2016;34(1):78-83. doi:10.1038/nbt.3439
69. Aksoy S, Weiss B, Attardo G. Paratransgenesis Applied for Control of Tsetse Transmitted Sleeping Sickness. In: Aksoy S, éditeur. *Transgenesis and the Management of Vector-Borne Disease* [Internet]. New York, NY: Springer; 2008 [cité 1 déc 2025]. p. 35-48. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-0-387-78225-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-0-387-78225-6_3) doi:10.1007/978-0-387-78225-6\_3
70. Flores HA, O'Neill SL. Controlling vector-borne diseases by releasing modified mosquitoes. *Nat Rev Microbiol*. août 2018;16(8):508-18. doi:10.1038/s41579-018-0025-0
71. Bansal GP, Kumar N. Immune mechanisms targeting malaria transmission: opportunities for vaccine development. *Expert Rev Vaccines*. 2024;23(1):645-54.

doi:10.1080/14760584.2024.2369583 PubMed PMID: 38888098; PubMed Central PMCID: PMC11472754.

72. Durvasula RV, Gumbs A, Panackal A, Kruglov O, Aksoy S, Merrifield RB, et al. Prevention of insect-borne disease: An approach using transgenic symbiotic bacteria. *Proc Natl Acad Sci.* avr 1997;94(7):3274-8. doi:10.1073/pnas.94.7.3274
73. Bisi DC, Lampe DJ. Secretion of Anti-Plasmodium Effector Proteins from a Natural *Pantoea agglomerans* Isolate by Using PelB and HlyA Secretion Signals. *Appl Environ Microbiol.* juill 2011;77(13):4669-75. doi:10.1128/AEM.00514-11
74. Favia G, Ricci I, Damiani C, Raddadi N, Crotti E, Marzorati M, et al. Bacteria of the genus *Asaia* stably associate with *Anopheles stephensi*, an Asian malarial mosquito vector. *Proc Natl Acad Sci.* 22 mai 2007;104(21):9047-51. doi:10.1073/pnas.0610451104
75. Wang S, Ghosh AK, Bongio N, Stebbings KA, Lampe DJ, Jacobs-Lorena M. Fighting malaria with engineered symbiotic bacteria from vector mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci.* 31 juill 2012;109(31):12734-9. doi:10.1073/pnas.1204158109
76. Wilke ABB, Marrelli MT. Paratransgenesis: a promising new strategy for mosquito vector control. *Parasit Vectors.* 24 juin 2015;8(1):342. doi:10.1186/s13071-015-0959-2
77. Waltz E. GM mosquitoes fire first salvo against Zika virus. *Nat Biotechnol.* 1 mars 2016;34(3):221-2. doi:10.1038/nbt0316-221
78. Carvalho DO, McKemey AR, Garziera L, Lacroix R, Donnelly CA, Alphey L, et al. Suppression of a Field Population of *Aedes aegypti* in Brazil by Sustained Release of Transgenic Male Mosquitoes. *PLoS Negl Trop Dis.* 2 juill 2015;9(7):e0003864. doi:10.1371/journal.pntd.0003864
79. Fallon AM. From Mosquito Ovaries to Ecdysone; from Ecdysone to Wolbachia: One Woman's Career in Insect Biology. *Insects.* août 2022;13(8):8. doi:10.3390/insects13080756
80. Carnevale P, Robert V, éditeurs. Les anophèles: Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle [Internet]. IRD Éditions; 2009 [cité 13 nov 2025]. Disponible sur: <http://books.openedition.org/irdeditions/10374> doi:10.4000/books.irdeditions.10374
81. Diallo M, Sangare D, Diarra A, Camara D, Mariko R, Guidenhard M, et al. Dynamic study of *Anopheles gambiae* s.l. population and polymorphism of TRP1 gene during high malaria transmission season in Bancoumana commune, Mali. *Rev Malienne Infect Microbiol.* 29 avr 2017;(9). doi:10.53597/remim.v0i9.926
82. Carnevale P, Robert V, éditeurs. Les anophèles : Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. Les anophèles : Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle [Internet]. Marseille: IRD Éditions; 2009 [cité 2 déc 2025]. 391-[8] p. (Didactiques). Disponible sur: <https://books.openedition.org/irdeditions/10374>
83. Catry T, Pottier A, Marti R, Li Z, Roux E, Herbreteau V, et al. Dossiê Geografia, saúde e ambiente : uma abordagem da complexidade dos problemas atuais na saúde = Dossier

Géographie, santé et environnement : une approche de la complexité des questionnements actuels en santé. 1 janv 2018.

84. Ukegbu CV, Gomes AR, Giorgalli M, Campos M, Bailey AJ, Besson TRB, et al. Identification of genes required for Plasmodium gametocyte-to-sporozoite development in the mosquito vector. *Cell Host Microbe*. 13 sept 2023;31(9):1539-1551.e6. doi:10.1016/j.chom.2023.08.010 PubMed PMID: 37708854.
85. Cha SJ, Vega-Rodriguez J, Tao D, Kudyba HM, Hanner K, Jacobs-Lorena M. Plasmodium female gamete surface HSP90 is a key determinant for fertilization. *mBio*. 22 déc 2023;15(2):e03142-23. doi:10.1128/mbio.03142-23
86. Shi Y, Wan L, Jiao M, Zhong C qi, Cui H, Yuan J. Elevated NAD<sup>+</sup> drives Sir2A-mediated GCβ deacetylation and OES localization for Plasmodium ookinete gliding and mosquito infection. *Nat Commun*. 6 mars 2025;16(1):2259. doi:10.1038/s41467-025-57517-y
87. Ukegbu CV, Gomes AR, Giorgalli M, Campos M, Bailey AJ, Besson TRB, et al. Reverse genetic screen identifies malaria parasite genes required for gametocyte-to-sporozoite development in its mosquito host [Internet]. *bioRxiv*; 2023 [cité 2 oct 2025]. p. 2023.03.14.532540. Disponible sur: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.03.14.532540v1> doi:10.1101/2023.03.14.532540
88. Rosenberg R, Rungsiwongse J. The Number of Sporozoites Produced by Individual Malaria Oocysts [Internet]. 1 nov 1991. doi:10.4269/ajtmh.1991.45.574
89. Lehmann T, Dao A, Yaro AS, Adamou A, Kassogue Y, Diallo M, et al. Aestivation of the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae* in the Sahel. *Am J Trop Med Hyg*. sept 2010;83(3):601-6. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0779 PubMed PMID: 20810827; PubMed Central PMCID: PMC2929058.
90. Perera OP, Harrell II RA, Handler AM. Germ-line transformation of the South American malaria vector, *Anopheles albimanus*, with a piggyBac/EGFP transposon vector is routine and highly efficient. *Insect Mol Biol*. août 2002;11(4):291-7. doi:10.1046/j.1365-2583.2002.00336.x
91. Smidler AL, Marrogi E, Kauffman J, Paton DG, Westervelt KA, Church GM, et al. CRISPR-mediated germline mutagenesis for genetic sterilization of *Anopheles gambiae* males. *Sci Rep*. 19 févr 2024;14(1):4057. doi:10.1038/s41598-024-54498-8
92. Yao FA, Millogo AA, Epopa PS, North A, Noulin F, Dao K, et al. Mark-release-recapture experiment in Burkina Faso demonstrates reduced fitness and dispersal of genetically-modified sterile malaria mosquitoes. *Nat Commun*. 10 févr 2022;13(1):796. doi:10.1038/s41467-022-28419-0
93. Au Burkina, un premier lâcher de moustiques génétiquement modifiés crée la polémique [Internet]. 4 juill 2019 [cité 2 oct 2025]. Disponible sur: [https://www.le-monde.fr/afrique/article/2019/07/04/au-burkina-un-premier-lacher-de-moustiques-genetiquement-modifies-cree-la-polemique\\_5485432\\_3212.html](https://www.le-monde.fr/afrique/article/2019/07/04/au-burkina-un-premier-lacher-de-moustiques-genetiquement-modifies-cree-la-polemique_5485432_3212.html)

94. Mollahosseini A, Rossignol M, Pennetier C, Cohuet A, Anjos A dos, Chandre F, et al. A user-friendly software to easily count Anopheles egg batches. *Parasit Vectors*. 19 juin 2012;5:122. doi:10.1186/1756-3305-5-122 PubMed PMID: 22713553; PubMed Central PMCID: PMC3464736.
95. Pollegioni P, Persampieri T, Minuz RL, Bucci A, Trusso A, Martino SD, et al. Introgression of a synthetic sex ratio distortion transgene into different genetic backgrounds of *Anopheles coluzzii*. *Insect Mol Biol*. févr 2023;32(1):56-68. doi:10.1111/imb.12813 PubMed PMID: 36251429; PubMed Central PMCID: PMC10092091.
96. Koenraadt CJ, Kormaksson M, Harrington LC. Effects of inbreeding and genetic modification on *Aedes aegypti* larval competition and adult energy reserves. *Parasit Vectors*. 6 oct 2010;3:92. doi:10.1186/1756-3305-3-92 PubMed PMID: 20925917; PubMed Central PMCID: PMC2967506.
97. Zhang M, Wen H, Sun Q, Zhang D, Li Y, Xi A, et al. Early attainment of 20-hydroxyecdysone threshold shapes mosquito sexual dimorphism in developmental timing. *Nat Commun*. 18 janv 2025;16:821. doi:10.1038/s41467-025-56224-y PubMed PMID: 39827175; PubMed Central PMCID: PMC11743200.
98. James S, Collins FH, Welkhoff PA, Emerson C, Godfray HCJ, Gottlieb M, et al. Pathway to Deployment of Gene Drive Mosquitoes as a Potential Biocontrol Tool for Elimination of Malaria in Sub-Saharan Africa: Recommendations of a Scientific Working Group [Internet]. 7 juin 2018. doi:10.4269/ajtmh.18-0083
99. Williams AE, Sanchez-Vargas I, Martin LE, Martin-Martin I, Bennett S, Olson KE, et al. Quantifying Fitness Costs in Transgenic *Aedes aegypti* Mosquitoes. *J Vis Exp JoVE*. 15 sept 2023;(199):e65136. doi:10.3791/65136
100. Koenraadt CJ, Kormaksson M, Harrington LC. Effects of inbreeding and genetic modification on *Aedes aegypti* larval competition and adult energy reserves. *Parasit Vectors*. 6 oct 2010;3(1):92. doi:10.1186/1756-3305-3-92

# ANNEXES

## **9. Annexes**

### **9.1. Protocole de maintien de la colonie de moustiques mâles stériles**

Maintien de la colonie de moustique mâles stériles génétiquement modifié. Le maintien de la souche mâle stérile génétiquement modifié se fait en développement synchrone avec la colonie locale (Wild-type) par rétrocroisement augmentant ainsi les chances d'accouplement réussi et la transmission du transgène présent dans les souches Ac(DSM)2. Au stade 3 et ou 4, les larves transgéniques sont triées. Pour cela, les larves sont étalées individuellement dans des puits (8puits) sur une lame de microscope (ER-201B-CE24 6mm), en utilisant le moins d'eau possible. Elles sont observées sous la loupe à fluorescence en déterminant la présence ou l'absence du marqueur DsRed au niveau des yeux. A l'aide d'une pipette en plastique, les larves portant le marqueur DsRed positifs (larves ayant la fluorescence rouge au niveau des yeux) sont triées des DsRed négatives (larves n'ayant pas de fluorescence rouge). Elles sont ensuite regroupées en fonction de leur statut modifiées ou non modifiées. A l'apparition des nymphes, elles sont collectées, puis triées par sexe sous une loupe binoculaire. Elles sont ensuite transférées par lot dans une boîte de Pétri contenant une petite quantité d'eau. Un pinceau à bout fin servira à faire bouger délicatement chaque nymphe pour regarder la partie terminale de l'abdomen afin d'identifier le sexe. Pour l'établissement de la cage de maintenance, les nymphes femelles sont croisées avec les nymphes mâles de la colonie locale (wild type).

### **9.2. Processus du gorgement des cages pour la détermination de la stérilité sexuelle des mâles Ac(DSM)2**

Après émergence des adultes, à l'aide d'un appareil de gorgement de type « Hemotek Membrane Feeding System » (Hemotek Ltd), les moustiques âgés d'au moins trois jours sont gorgés. L'appareil d'alimentation est composé de six plaques (6) d'aluminium à laquelle une membrane de collagène (Parafilm) est fixée et remplie de sang maintenu chaud par un élément chauffant électrique. Les moustiques sont au préalable mis à jeun pendant quatre (4-8) heures et gorgé durant 30-60 minutes. A la fin du gorgement, les disques du feeder contenant le sang sont retirés, nettoyés et lavés à l'eau de robinet. Les disques sont ensuite trempés dans une solution d'eau javellisée à 1% pendant 30 minutes afin d'être désinfecté. Afin d'enlever les résidus de chlore, les disques sont lavés une seconde fois à l'eau de robinet et gardés pour une prochaine utilisation

### **9.3. Lavages des œufs**

Après le retrait, la photographie des œufs ils ont ensuite été désinfectés dans une solution d'eau chlorée à 1 %.

Pour ce faire, un disque de papier filtre (type Wattman®) a été placé au centre du système de filtration, humidifié, puis pressé légèrement pour qu'il adhère aux rebords et forme un joint hermétique.

La pompe a été mise en marche, et les œufs présents sur le papier filtre du pondoir ont été doucement lavés afin qu'ils se déposent au centre du papier, évitant leur dispersion. Une fois le lavage terminé, la pompe a été arrêtée et le papier filtre soulevé délicatement pour relâcher la pression.

Ensuite, le creux a été rempli d'une solution chlorée à 1 %. Après 30 secondes, la pompe a été arrêtée, le creux rincé avec de l'eau, puis la pompe a été remise en marche. Cette étape a été répétée 9 fois. Les œufs, une fois nettoyés, ont été transférés dans des plateaux distincts contenant chacun 500 ml d'eau du robinet. Ces plateaux ont été conservés dans l'insectarium pour évaluer le taux d'éclosion.

# FICHE SIGNALÉTIQUE

**Nom :** SISSOKO

**Prénom :** Madjougou

**Titre de thèse :** Caractérisation des traits d'histoire de vie d'une colonie de moustiques génétiquement modifiés Ac(DSM)2 mâles stériles en condition de laboratoire au Mali

**Année de soutenance:** 2026

**Ville de soutenance :** Bamako

**Pays d'origine :** Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie

**Secteur d'intérêt :** Médical Entomologie.

**Adresse électronique :** mahmisslova@gmail.com

## Résumé :

Les appels lancés par l'OMS en faveur du développement de nouvelles stratégies et outils de lutte antivectorielle, destinés à compléter et à renforcer ceux déjà existants, ont conduit à l'émergence de la modification génétique des moustiques. Dans ce contexte, cette étude expérimentale avait pour objectif de caractériser les traits d'histoire de vie d'une colonie de moustiques génétiquement modifiés mâles stériles, en conditions de laboratoire. Les paramètres biologiques ont été déterminés à travers des rétrocroisements entre les femelles modifiées Ac(DSM)2 et des mâles sauvages sur une période couvrant 23 générations. Les résultats ont montré que les femelles Ac(DSM)2 présentaient une fécondité globale variant de 6,4 à 39,7 œufs, avec une moyenne de 22,64 œufs par femelle. Le taux d'éclosion des œufs était relativement élevé, avec une moyenne de 88,39 %. Le temps de développement des larves transgéniques était significativement plus long que celui des larves non transgéniques, avec une moyenne globale de 8,88 jours. Le taux moyen d'émergence était de 92,51 %, avec une légère augmentation chez les nymphes transgéniques (93,3 %) comparativement aux nymphes non transgéniques (91,8 %). La souche Ac(DSM)2 présente une bonne stabilité en laboratoire avec des traits biologiques compatibles avec la ligne non transgénique. Ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses pour l'optimisation des stratégies de lutte génétique, notamment en vue d'une application à plus grande échelle et en conditions naturelles pour le contrôle durable des populations de moustiques vecteurs.

**Mots clés :** Moustique génétiquement modifié, Paludisme, Mâle stérile, Mali

# SPECIFICATION SHEET

**Last name:** SISSOKO

**First Name:** Madjougou

**Title:** Characterization of life history parameters of a sterile male genetically modified colony of Ac(DSM)2 mosquitoes under laboratory conditions in Mali

**Year of defense:** 2026

**City of defense:** Bamako

**Country of Origin:** Mali

**Place of deposit:** Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Dentistry

**Area of interest:** Medical Entomology.

**Email address:** mahmisslova@gmail.com

## **Abstract**

Calls launched by the World Health Organization (WHO) in favor of developing new vector control strategies and tools, aimed at complementing and strengthening existing ones, have led to the emergence of genetically modified mosquitoes. In this context, this experimental study aimed to characterize the life-history traits of a colony of genetically modified sterile male mosquitoes under laboratory conditions. Biological parameters were assessed through back-crosses between modified Ac(DSM)2 females and wild-type males over a period covering 23 generations. The results showed that Ac(DSM)2 females exhibited an overall fecundity ranging from 6.4 to 39.7 eggs, with an average of 22.64 eggs per female. The egg hatching rate was relatively high, with an average of 88.39%. The development time of transgenic larvae was significantly longer than that of non-transgenic larvae, with an overall mean of 8.88 days. The mean emergence rate was 92.51%, with a slight increase observed in transgenic pupae (93.3%) compared to non-transgenic pupae (91.8%). The Ac(DSM)2 strain demonstrated good laboratory stability, with biological traits comparable to the non-transgenic line. These results provide promising perspectives for optimizing genetic control strategies, particularly for large-scale applications and under natural conditions for the sustainable control of mosquito vector populations.

**Keywords:** Mosquito genetically modified, Malaria, Sterile male, Mali

## **SERMENT DE GALIEN**

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession avec conscience et de Respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Je le jure !**