

Ministère des Enseignements
Secondaire Supérieur et de la
Recherche Scientifique

République du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi

UNIVERSITE DE BAMAKO



Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Année : 2007- 2008



N°...../

Thèse

**IMPACT DE L'INSEMINATION SUR
LA LONGEVITE ET LA FECONDITE
DE LA FORME MOLECULAIRE M
D'*An. gambiae***

**Présentée et soutenue publiquement le / / 2008
devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie
Par Mr. Yaya Kassogue**

**Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
(Diplôme d'Etat)**

Jury

Président : Pr. Sékou F. TRAORE
Membres : Dr. Abdoulaye M. TOURE
Dr. Djibril M. SANGARE
Codirecteur : M. Adama DAO
Directeur de thèse : Dr. Guimogo DOLO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2007-2008

ADMINISTRATION

DOYEN: **Anatole TOUNKARA** - Professeur

1^{er} ASSESSEUR: **Drissa DIALLO** - MAITRE DE CONFERENCES

2^{ème} ASSESSEUR: **Sékou SIDIBE** - MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL: **Yénimégue Albert DEMBELE** - Professeur

AGENT COMPTABLE: **Mme COULIBALY Fatoumata TALL** - CONTROLEUR DES FINANCES

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie – Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M Keita	Pédiatrie
Mr Siné Bayo	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya Simaga	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boulkassoum Haidara	Legislation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

▪ D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale, Chef de D.E.R

Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP
2. MAITRES DE CONFERENCES

Chirurgie Générale

Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Gangaly DIALLO
Mr Mamadou TRAORE
Mr Filifing SISSOKO
Mr Sekou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tieman COULIBALY
Mme TRAORE J THOMAS
Mr Mamadou L. DIOMBANA
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE
Mr Nouhoum ONGOÏBA
Mr Sadio YENA
Mr Youssouf COULIBALY

Ophthalmologie
Chirurgie Viscérale
Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale
Orthopédie-Traumatologie
Anesthésie-Réanimation
Orthopédie-Traumatologie
Ophthalmologie
Stomatologie
Gynéco-Obstétrique
Anatomie & Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Zimogo Zié SANOGO
Mme Djénéba Doumbia
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Adama SANGARE
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Tiémoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA
Mr Bouraïma MAIGA
Mr Youssouf SOW
Mr Djibo Mahamane DIANGO
Mr Moustapha TOURE

Gynéco-Obstétrique
ORL
ORL
Chirurgie Générale
Anesthésie / Réanimation
Urologie
Orthopédie- Traumatologie
Ophthalmologie
Ophthalmologie
Orthopédie - Traumatologie
Ophthalmologie
Orthopédie/ Traumatologie
Urologie
Gynécologie/ Obstétrique
Odontologie
Odontologie
ORL
Gynécologie/ Obstétrique
Chirurgie Générale
Anesthésie / Réanimation
Gynécologie

▪ D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA

Chimie Générale & Minérale
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie-Mycologie
Chimie Organique
Immunologie

Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahamane S. MAÏGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou Koné

Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE
Mr Flabou BOUGOUDOGO
Mr Amagana DOLO
Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F. M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Ibrahim I. MAÏGA

Histoembryologie
Bactériologie – Virologie
Parasitologie
Biologie
Entomologie médicale
Malacologie – Biologie Animale
Bactériologie – Virologie

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA
Mr Mounirou Baby
Mr Mahamadou A THERA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Bouréma KOURIBA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheick Bougadari TRAORE
Mr Guimogo DOLO
Mr Mouctar DIALLO
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Boubacar TRAORE

Chimie Organique
Hématologie
Parasitologie - Mycologie
Biophysique
Biologie
Immunologie
Bactériologie/ Virologie
Anatomie pathologie
Entomologie-Moléculaire Médicale
Biologie/ Parasitologie
Entomologie-Moléculaire Médicale
Parasitologie - Mycologie

4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOKO
Mr Djbril SANGARE
Mr Boubacar TRAORE
Mr Bocary Y Sacko
Mr Mamadou Ba
Mr Moussa FANE

Entomologie-Moléculaire Médicale
Entomologie-Moléculaire Médicale
Immunologie
Biochimie
Biologie/ Parasitologie entomologie médicale
Parasitologie Entomologie

▪ D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAÏGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO
Mr Moussa Y. MAIGA

Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie- **Chef de D.E.R.**
Neurologie
Radiologie
Médecine Interne
Hématologie
Gastro-entérologie-Hépatologie

Mr Somita KEITA
Mr Boubakar DIALLO
Mr Toumani SiDIBE

Dermato-Léprologie
Cardiologie
Pédiatrie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA
Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Siaka SIDIBE
Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mr Sahare FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mr Adama D. KEITA

Pneumo-Phtisiologie
Médecine Interne
Radiologie
Médecine Interne
Radiologie
Néphrologie
Psychiatrie
Psychiatrie
Gastro-entérologie
Endocrinologie
Radiologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mme Habibatou DIAWARA
Mr Daouda K Minta
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Arouna TOGORA
Mme Diarra Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Sounkalo DAO
Mr Cheick Oumar GUINTO

Pédiatrie
Dermatologie
Maladies Infectieuses
Cardiologie
Cardiologie
Psychiatrie
Médecine interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépatogastro-entérologie
Hépatogastro-entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies infectieuses
Neurologie

▪ D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE
Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Elimane MARIKO

Chimie Analytique, **Chef de D.E.R**
Pharmacie Chimique
Pharmacologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO
Mr Alou KEITA

Matières médicales
Galénique

Mr Benoît Yaranga KOUMARE
Mr Ababacar I. MAÏGA

Chimie analytique
Toxicologie

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mne Rokia SANOGO
Mr Yaya KANE
Mr Saibou MAÏGA
Mr Ousmane KOITA
Mr Yaya COULIBALY

Pharmacognosie
Galénique
Législation
Parasitologie Moléculaire
Législation

- **D.E.R. SANTE PUBLIQUE**

1. PROFESSEUR

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2. MAÎTRE DE CONFERENCES

Mr Moussa A. MAÏGA

Santé Publique

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA
Mr Hamadoun SANGHO
Mr Massambou SACKO
Mr Alassane A. DICKO
Mr Mamadou Souncalo TRORE
Mr Hammadoun Aly
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Samba DIOP
Mr Akory AG IKNANE

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Epidémiologie
Anthropologie Médicale
Santé Publique

4. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO
Mr Seydou DIARRA

Biostatistique
Anthropologie Médicale

- **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA
Mr Boubou DIARRA
Mr Salikou SANOGO
Mr Boubacar KANTE
Mr Souleymane GUINDO
Mme DEMBELE Sira DIARRA
Mr Modibo DIARRA
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA
Mr Mahamadou TRAORE
Mr Yaya COULIBALY

Botanique
Bactériologie
Physique
Galénique
Gestion
Mathématiques
Nutrition
Hygiène du Milieu
Génétique
Législation

Mr Lassine SIDIBE

▪ **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Chimie-Organique

Pr. Doudou BA

Pr. Babacar FAYE

Pr. Lamine GAYE

Pr. Mounirou CISSE

Pr. Amadou Papa DIOP

Bromatologie

Pharmacodynamie

Physiologie

Hydrologie

Biochimie

DEDICACES

Je dédie cette thèse à:

Ma mère Mèrèbara Kassogué, mère de famille infatigable, en m'amenant à accepter et à aimer les autres avec leurs différences. Tu as cultivé en moi la tolérance et l'amour du prochain. Que dieu te donne longue vie pleine de santé.

Amen !

Mon père Bourema dit Ebelou Kassogué, chef de famille exemplaire. Ce travail est le couronnement de tous les sacrifices que tu as consentis. Ton dévouement inlassable, ta bonté dans la rigueur, ta générosité et ton sens d'écoute ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Que le tout puissant nous accorde santé et longue vie.

Amen !

A mes frères et sœurs : Oumar Kassogué, Aboubacar Kassogué, Moctar Kassogué, Aïssatou Kassogué, Djèneba Kassogué, Tandou Kassogué, Kadiatou Kassogué, vous êtes et vous serez à tous les instants de la vie mes premiers compagnons.

Je prie le tout puissant de fructifier davantage nos relations.

Amen !

A mes amis (es) : Mamoutou Kamité, Karamoko Coulibaly, Mahamadoul Affiss Djiré, Mamoutou Diarra, Yacouba Coulibaly, Samba Samaké, Makan Sissoko, Abdoulaye Kassogué, Amadou Kassogué, Dramane Diarra, Mariam Diakité.

Votre bonne conduite dans la société m'a beaucoup inspiré, que le Miséricordieux nous gratifie le succès dans toutes nos démarches.

Amen !

REMERCIEMENTS

A Dieu, Le Tout Puissant, Le Clément, L'Omniscient, L'Omnipotent, Le Miséricordieux, pour m'avoir guidé, et donner la force et le courage de réaliser ce modeste travail.

Au Pr. Yéya Tiémoko Touré : Premier Directeur du MRTC, Coordinateur de la recherche sur le paludisme et Manager du Comité d'Entomologie Moléculaire de l'OMS à Genève, scientifique infatigable et méticuleux. Ce travail est le fruit de l'effort conjugué de toute une équipe de recherche à laquelle vous avez su inculquer avant votre départ, l'esprit de la compétitivité dans l'honnêteté scientifique. Puisse ce travail exprime toute ma profonde reconnaissance et mon admiration.

Aux Chercheurs du MRTC (DEAP)

Pr. Sékou F. Traoré, Dr Seydou Doumbia, Dr. Guimogo Dolo, Dr. Abdoulaye Touré, Dr. Mahamadou Coulibaly, Dr. Mahamadou Touré, Dr. Yaya Coulibaly, Dr. Benoît Dembélé, Dr Djibril Sangaré, Dr Nafomon Sogoba, Mangaran Bagayoko, Ibrahim Baber Maïga, Oumou Niaré,
Chacun de vous a donné le maximum de lui pour m'aider chaque fois que j'étais dans le besoin. Les mots me manquent pour vous remercier de votre disponibilité.

Au Dr Tovi Lehmann qui a consacré beaucoup d'efforts pour l'aboutissement de ce travail.

A l'unité Vecteur-Ecologie

Mr Adama Dao, Mr Alpha Seydou Yaro, Dr Abdoulaye Adamou, Mr Moussa Diallo. Le temps passé à vos cotés m'a permis d'assimiler beaucoup de choses dans le cadre de ma thèse. Votre apport intellectuel et matériel, ainsi que vos conseils de grands frères ne m'ont jamais fait défaut aux moments les plus cruciaux. Votre simplicité, votre esprit d'équipe et votre disponibilité constante à aider ceux qui en ont besoin, font de vous des scientifiques et des pédagogues admirables. Soyez rassurés de ma profonde reconnaissance.

A mes aînés diplômés de l'ENSUP au laboratoire MRTC

Alpha Seydou Yaro, Ibrahim Moussa Sissoko, Cheick Amadou Coulibaly, Abdallah Diallo, Moussa Keita.

C'est le lieu de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Bonne carrière professionnelle à vous tous.

A mes aînés et thésards au MRTC

Dr. Sékou Koumaré, Dr. Mahamoud Maïga, Dr. Bréhima Diallo, Dr. Boubacar Guindo, Dr. Sibiri Samaké, Dr. Danaya Koné, Dr. Saïdou Balam, Dr. Houseyni Dolo, Dr. Batenin Sacko, Assan Dolo, Lamine Soumaoro, Mahamadou Konaté, Mahamadou Traoré, Amadou Guindo, Bréhima Diakité, Chaka Coulibaly, Chaka Konaté, Madjou Sacko.

Tous, vous avez répondu présent et avec enthousiasme à mes appels pour me servir le long de ce travail. Je vous souhaite plein de succès dans la vie.

Aux techniciens du MRTC

Adama Sacko, Boubacar Coulibaly, Abdramane Fofana, Michel Coulibaly.

Vous avez répondu présent et avec enthousiasme quand j'avais besoin de vous. C'est le lieu de vous remercier et de vous souhaiter une bonne carrière professionnelle.

Aux guides de Bancoumana : Yacouba, Souleymane Camara, Mamady Traoré.

Merci pour votre disponibilité pour mener à bien ce travail.

A Dr. Sakai et Souleymane Karembé, je ne saurai dire combien votre gentillesse m'a marqué tout au long de ce travail. Veuillez accepter l'expression de ma profonde reconnaissance.

A tous les informaticiens du MRTC : Sidy Soumaré, Madame Soumaré Salimata Traoré, Amadou Diallo et Mady Diarra.

A tous les chauffeurs du MRTC : Mamadou Keita, Abdoulaye Koné, Yoro Sidibé, Moro Diakité, Moumine Diallo, Madou Diallo, Youssouf Ouologueume.

Aux manœuvres du MRTC : Bemba Diarra, Abdoulaye Coulibaly, Mamadou Traoré, Youssouf Traoré.

A la famille feu Seydou Kassogué pour leur bonté et leurs encouragements qui ont beaucoup contribué à mes réussites à université. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et de ma reconnaissance.

A tous les étudiants de la promotion 2000-2007 de la faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odonto-Stomalogie (FMPOS).

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

AUX MEMEBRES DU JURY

A notre maître et Président du jury

Professeur Sékou Fantamady Traoré,

PhD en entomologie médicale,

Chargé de l'enseignement de biologie cellulaire à la FMPOS.

Chef de la section entomologie du MRTC

Co-directeur du MRTC

Vous nous faite un inestimable honneur en acceptant de présider ce jury.

Grâce à vos hautes qualités intellectuelles et sociales, votre rigueur scientifique et votre disponibilité, ce travail a pu voir le jour. Soyez rassuré de notre profond attachement de notre reconnaissance et de notre admiration.

A notre maître et juge

Docteur Abdoulaye M. Touré

Docteur en Médecine, PhD en parasitologie entomologie médicale

Coordinateur régional de la lutte anti vectorielle pour le centre O.M.D

(Objectif du Millénaire pour le Developpement) pour l'Afrique de l'Ouest et du centre.

Nous avons apprécié vos qualités scientifiques et pédagogiques tout au long de cette thèse. Votre rigueur et votre amour pour le travail bien accompli ainsi que votre sens critique ont fait de vous un homme apprécié de tous. Soyez rassuré de notre profond attachement et de notre entière confiance.

A notre maître et juge

Dr Djibril M. Sangaré

PhD en parasitologie entomologie médicale, PhD en entomologie moléculaire

Chef de l'unité bio-informatique des vecteurs

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos qualités humaines et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

A notre maître et co-directeur de thèse

Mr Adama Dao

Master en science biologique

DEA en entomologie et en parasitologie médicales

Nous avons apprécié vos qualités scientifiques et pédagogiques tout au long de cette thèse. Votre rigueur et votre amour pour le travail bien fait ainsi que votre sens critique ont fait de vous un homme apprécié de tous.

Soyez rassuré de notre profond attachement et de notre entière confiance.

A notre maître et directeur de thèse

Dr Guimogo Dolo

PhD en parasitologie entomologie médicale

Chef de section Biologie moléculaire

Chargé de l'enseignement de la génétique à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Je suis très flatté que vous ayez accepté de m'encadrer.

Vos qualités humaines scientifiques et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré

Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document

Puisse ce travail exprime toute notre estime, notre profonde gratitude, et notre entière confiance.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide desoxyribonucleique

An : *Anophèles*

AR : *arabiensis*

B : forme Bamako

Bp : Base paire

Bti : *Bacillus thurigiensis israelensis*

DNTP: Dinotrotriphosphate

F1: première génération de moustique

Fig.: figure

GIS: Geographical information system

GA: *gambiae*

g/ha: gramme par hectare

h: heure

J: jour

Km : kilomètre

L : longueur ; **l** : largeur ;

L1, L2, L3, L3, L4 : stades larvaires (larve de stade 1, 2, 3, et 4)

Moy: moyenne

MRTC: Malaria Research and Training Center

MII : Moustiquaire imprégnée d'insecticide

Min : minimum

Max : maximum

Tab. : tableau

Mgcl₂ : chlorure de magnésium

M : forme Mopti

µl: microlitre

µm : micromètre

mM : millimole

N : Nombre

mn : minute

ng/ml : nano gramme par millilitre

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

PCR : Polymérase chaîne réaction

% : Pourcentage

S : forme Savane

s.l: sens large

s.s: sens strict

Taq : Tacus aquaticus

T : temps

UN : Universel

UV : Ultraviolet

SOMMAIRE

1.Introduction.....	1
2.Généralités.....	5
2.1 Le parasite	5
2.2. Le vecteur.....	5
2.2.1 Classification.....	5
2.2.2 Cycle biologique.....	8
2.2.3 Morphologie.....	6
2.3 Lutte contre les vecteurs du paludisme.....	11
2.3.1 Lutte anti-larvaire.....	11
A. La lutte physique.....	11
B. La lutte biologique.....	12
C. La lutte chimique.....	13
2.3.2 La lutte contre les adultes.....	14
3. Matériels et méthodes.....	17
3.1 Lieu de capture des anophèles.....	17
3.2 Période et type d'étude.....	18
3.3 Déroulement de l'expérience.....	18
3.3.1 Collecte des anophèles.....	18
3.3.2. Organisation des pontes individuelles.....	18
3.3.3 Conditionnement des œufs et des femelles sauvages.....	19
3.3.4. Elevage des larves et collecte des nymphes.....	19
3.3.5 Adultes.....	19
3.3.6 Procédure d'expérimentation.....	20

3.3.6.1 Première expérimentation : Traitement des femelles.....	20
3.3.6.2 Deuxième expérimentation : Traitement des mâles et des femelles.....	21
3.3.7 Mesure de la longévité.....	21
3.3.8 Mesure de la fécondité.....	21
3.7.9 Mesure de la taille des ailes.....	22
3.4 Identification des moustiques par PCR.....	22
3.5 Saisie et analyse des données.....	22
4. Résultats.....	23
4.1. Première expérimentation : Etude de la fécondité et de la longévité des femelles.....	23
4.1.1 Evaluation de l'insémination.....	23
4.1.2 Etude de la fécondité.....	24
4.1.2.1 Effet de l'insémination sur la fécondité.....	24
4.1.2.2 Effet de la taille de la femelle sur la fécondité.....	26
4.1.3 Etude de la longévité.....	27
4.1.3.1 Effet du régime alimentaire sur la longévité.....	27
4.1.3.2 Effet de la taille sur la longévité.....	30
4.2 Deuxième expérimentation : Influence de l'intense activité sexuelle sur la longévité des mâles.....	31
4.2.1 Variation du taux d'insémination en fonction de l'intensité de l'activité sexuelle des mâles.....	31
4.2.2 Etude de la longévité.....	33
4.2.2.1 Effet de l'activité sexuelle des mâles sur leur longévité.....	33
4.2.2.2 Effet de la taille des mâles sur leur longévité.....	35

4.2.2.3 Longévité des femelles inséminées en fonction de l'intensité de l'activité sexuelle des mâles.....	36
5. Commentaires et discussion.....	38
51. Première expérimentation.....	38
5.1.1 Fécondité des femelles.....	38
5.1.2 Longévité des femelles.....	39
5.2 Deuxième expérimentation.....	40
5.2.1 Variation de l'activité sexuelle des mâles.....	40
5.2.2 Longévité des mâles.....	40
6. Conclusion et recommandations.....	42
7. Bibliographie.....	43
8. Annexes	

1. Introduction

Le moustique *Anopheles gambiae* est l'un des vecteurs majeurs du paludisme en Afrique sub-saharienne. Dans le monde le paludisme touche aujourd'hui plus de 100 pays, couvrant environ 40% de la population mondiale. Chaque année, 300 à 500 millions de cas cliniques sont enregistrés dont 90% se produisent en Afrique sub-saharienne (OMS, 2005). Au Mali, 36% des fièvres sont d'origine palustre chez les enfants de moins de 10 ans pendant la saison des pluies. Le paludisme est la première cause de mortalité et de morbidité avec des taux respectifs de 26.13% et 27.16% (PNLP-Mali, 2004).

Le complexe *An. gambiae* est composé de sept espèces, qui ne sont différenciables que par des moyens cytotaxonomiques, moléculaires et ou bionomiques (Coluzzi *et al*, 2002). Au sein de ce groupe, *An. gambiae s.s* a une plus large distribution dans la région Afro-tropicale sauf dans la corne de l'Afrique et dans la Péninsule Arabique (Coetzee *et al*, 2000).

Au Mali les principaux vecteurs sont : *An. gambiae s.l* et *An. funestus* (Touré, 1979). *An. gambiae s.l* se compose d'*An. arabiensis* et de trois formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s* dénommées Bamako, Savane et Mopti (Touré *et al*, 1989). Favia *et al* en 2001, Fanello *et al* en 2002 ont repartit ces trois formes chromosomiques en deux formes moléculaires M (Mopti) et S (Bamako et Savane) par l'amplification de l'ADN ribosomal.

Les fréquences relatives des formes chromosomiques ou moléculaires d'*An gambiae s.s* subissent des variations saisonnières significatives avec également une différence de distributions géographiques.

La forme S s'observe essentiellement en saison de pluies et en savane soudanienne et le long des cours d'eau alors que la forme M se rencontre aussi bien en saison de pluies qu'en saison sèche et presque partout dans le pays (Touré *et al*, 1994).

En général les anophèles adultes ont une activité crépusculaire ou nocturne. L'accouplement (au cours duquel s'effectue l'insémination de la femelle) se fait au crépuscule. Les mâles forment des essaims vers lesquels les femelles sont attirées par des signaux jusque là inconnus (Takken et Knols, 1999). Après l'acte sexuel, les femelles vont à la recherche d'un repas de sang indispensable à la maturation des œufs (Nayar et Sauerman, 1975 ; Foster, 1995). L'espèce *An. gambiae*, fortement anthropophile (White, 1974 ; Coluzzi *et al*, 1979) et endophile (Gibson, 1996) pique la nuit et surtout après minuit (Haddow, 1954). La ponte des œufs se fait généralement dans la soirée, pendant la nuit ou aux premières heures, avant le lever du soleil.

Chahad-Ehlers *et al* en 2007 ont montré que le pic des pontes se situe entre deux et cinq heures après le coucher du soleil.

Pour une même quantité de sang prise, les femelles inséminées développent plus d'œufs que les non inséminées chez *An. gambiae* (Klowden et Russel, 2004). Les adultes des deux sexes se nourrissent essentiellement du jus de nectar (Van Handel, 1984 ; Foster, 1995). La disponibilité du sucre augmente la longévité et diminue la fréquence des repas de sang chez *An. gambiae* (Gary et Foster, 2001).

Plusieurs stratégies ont été avancées dans la lutte contre ces vecteurs sans succès majeur. C'est ainsi qu'en 1998, l'OMS a lancé l'initiative « Roll Back Malaria » (faire reculer le paludisme) dont l'un des quatre éléments fondamentaux repose sur la lutte anti vectorielle.

Le contrôle des vecteurs est l'une des approches avérées pour diminuer la transmission du paludisme (Guerin *et al*, 2002 ; Lengeler *et al*, 2004), mais cette lutte se heurte à des problèmes tels que l'émergence de la résistance des moustiques aux insecticides (Chandre *et al*, 1999 Brooke *et al*, 2001). Ce qui peut entraîner une exacerbation de la prévalence de la maladie, la morbidité et la mortalité dans les pays sub sahariens.

Pour atténuer les conséquences de cette résistance, de nouveaux moyens de lutte sont de plus en plus envisagés par les chercheurs. L'un de ces moyens est de nos jours la manipulation génétique des populations anophéliennes (Ito, 2002 ; Moreira *et al*, 2002) afin d'obtenir des moustiques réfractaires au développement du parasite ou la création de mâles stériles puis leur introduction dans la population sauvage (Tabachnick, 2003).

Le succès de tels projets dépend en grande partie de la connaissance de certains paramètres comme l'insémination, la fécondité et la longévité qui influencent beaucoup la bio écologie des vecteurs.

C'est en cela que s'inscrit la présente étude qui se propose de contribuer à la compréhension de la relation entre l'activité sexuelle et la longévité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s.*

Objectif général :

Evaluer l'impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae s.s.*

Objectifs spécifiques :

- Déterminer le rapport entre la taille des femelles et la quantité d'œufs produits;
- Comparer la longévité des femelles en fonction du régime alimentaire ;
- Comparer la longévité des femelles inseminées à celle des femelles non inseminées ;
- Etablir le rapport entre la longévité et la taille ;
- Comparer la longévité des mâles vierges à celle des mâles ayant subi une intense activité sexuelle.

2. Généralités

2.1. Le parasite

Le *plasmodium* humain est un protozoaire de la classe des sporozoaires appartenant au phylum des *Api-complexa*. Le plasmodium se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies, d'où son nom hématozoaire (Singh *et al*, 2004). Le cycle biologique du *Plasmodium* nécessite deux hôtes, un hôte définitif invertébré (l'anophèle) et un hôte intermédiaire vertébré (l'homme).

2.2. Le vecteur

2.2.1 Classification

Le vecteur du paludisme est un moustique. Il appartient au règne animal, à l'embranchement des arthropodes, classe des insectes, ordre des diptères, nématocères, famille des Culicidae, sous-famille des Anophelinae, genre *Anopheles* (Holstein, 1949).

An. gambiae et *An. funestus* représentent les principaux vecteurs du paludisme en Afrique Subsaharienne.

An. gambiae s.s et *An. arabiensis* sont les espèces vectrices les plus efficaces (White 1974).

Au Mali, *An. gambiae s.l* se compose d'*An. arabiensis* et de trois formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s* dénommées Bamako, Savane et Mopti (Touré, 1979).

La technique de biologie moléculaire (Favia, 2001 ; Fanello, 2002) identifie ces trois formes chromosomiques en forme moléculaire M (la forme chromosomique Mopti : objet de notre étude) et S (regroupant les formes chromosomiques Savane et Bamako).

2.2.2 Cycle biologique

Les anophèles femelles pondent les œufs séparément, à la surface de l'eau, les œufs éclosent au bout de 24 à 48h (Holstein, 1949 ; Yaro, 2006).

Chaque œuf donne naissance à une larve sans siphon respiratoire. Pour cette raison, elle reste parallèle à la surface de l'eau contrairement aux *Aedes* et aux *Culex* qui restent obliques. Elle grossit de façon discontinue en subissant quatre mues successives (L1, L2, L3, L4). La quatrième mue se termine par la nymphose. Le stade nymphal dure en général moins de 48H et aboutit à l'émergence du moustique adulte ou imago.

Dès son émergence, l'adulte se repose sur son support, durant 10 à 24h, pendant que sa cuticule durcit, que ses ailes se déploient et que l'appareil génital mâle subit une hémirrotation de 180°, le rendant fonctionnel.

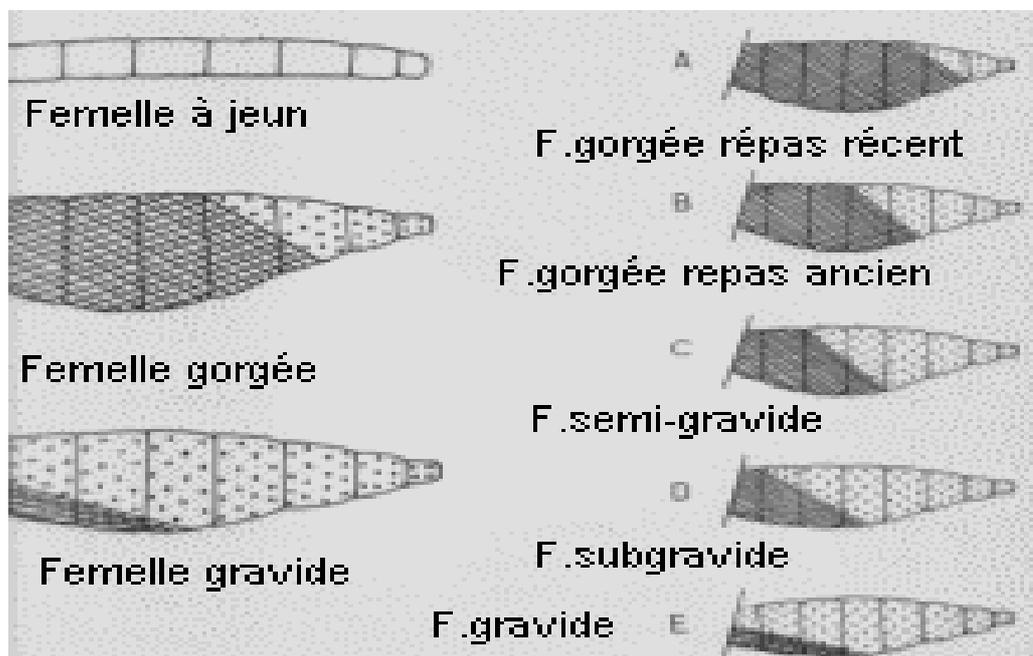
Les mâles et femelles s'accouplent, soit en vol pendant un essaimage (formé par les mâles), soit posé sur un support. Les mâles s'accouplent plusieurs fois dans leur vie mais les femelles ne s'accouplent le plus souvent qu'une seule fois (Clements, 1992). Les femelles inséminées conservent le sperme dans une poche, la spermathèque (*Fig. 2*), d'où elles rélarguent les spermatozoïdes lors des pontes successives (Pages *et al*, 2007).

Le mâle ne se nourrit que de jus sucrés, fournisseurs d'éléments énergétiques, la femelle, outre l'absorption de jus sucrés, prélève du sang tous les deux à trois jours sur un hôte vertébré. Elle trouve dans ce repas sanguin les éléments protéiques nécessaires au développement des ovocytes. Au cours du repas de sang elle prélèvera jusqu'à quatre fois le volume de son abdomen. Après le repas de sang, la femelle se repose, le plus souvent près du sujet sur lequel elle s'est nourri. Le sang absorbé se concentre, devient noir et exsude les produits aqueux pendant 1 à 2 heures.

Pendant la digestion, les ovocytes grossissent jusqu'à occuper la plus grande partie de l'abdomen qui paraît blanc par transparence. Il est facile de suivre à l'œil nu l'évolution de l'abdomen pendant la digestion du sang.

Suivant leur état de réplétion (*Fig.1*), les spécimens sont classés en :

- **Femelles à jeun ou non gorgées** : femelles tenebres ou femelles âgées n'ayant pas encore pris un repas de sang après une ponte.
- **Femelles gorgées** : femelles ayant pris fraîchement un repas de sang
- **Femelles semi-gravidés** : abdomen à moitié noirâtre contenant du sang en digestion, avec la partie apicale blanche du fait du développement des ovaires.
- **Femelles gravidés** : femelles ayant développé des œufs conservés encore dans l'abdomen.



Source : <http://lozere.org/perso/malaria/Vecteur.htm>

Figure (1) : images des différents états de réplétion

Une fois à maturité, l'ovocyte est pondu ; c'est au cours de la ponte, lors de son passage dans l'oviducte qu'il est fécondé par les spermatozoïdes conservés dans la spermathèque et devient un œuf (Clements, 1992).

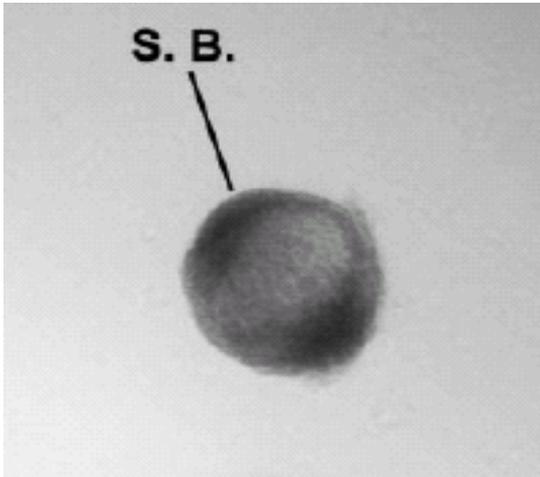


Figure (2) : image d'une spermathèque (Tripet, 2001)

Après la ponte, l'anophèle part à la recherche d'un nouveau repas sanguin. Le cycle biologique qui débute par la piqûre d'un vertébré se poursuit par la digestion du sang et la maturation des ovocytes, puis par la recherche d'un site d'oviposition et enfin la recherche d'un nouvel hôte est dit cycle gonotrophique (Clements, 1992).

Dans les régions tropicales et subtropicales, ce cycle dure 48 à 72 heures selon les espèces en fonction de la température. Dans les zones tempérées et froides, il peut durer plus d'une semaine.

La dispersion moyenne des anophèles adultes en vol varie de 10 à 14 Km par nuit (Kaufman et Briegel, 2004).

2.2.3 Morphologie

Le développement des anophèles comprend quatre stades : trois premiers stades aquatiques (pré-imaginaux) comprenant l'œuf, la larve et la nymphe et un quatrième stade aérien correspondant à l'imago.

- L'œuf

Il mesure environ 0.5 mm de long et est muni de flotteurs latéraux remplis d'air. Sa forme évoque celle d'un cylindre incurvé aux extrémités.

L'œuf comprend de l'intérieur vers l'extérieur : l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un endo-chorion épais, un exo-chorion plus ou moins pigmenté et ornementé (Monerat *et al*, 1998).

- La larve

Elle est aquatique et mesure environ 1 mm de long au premier stade et 5 mm au quatrième chez *Anopheles gambiae*. La larve comprend trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen.

. La tête

Elle comporte les yeux, les antennes et les pièces buccales entourant la bouche ventrale. Un cou membraneux sépare la tête du thorax. La larve des anophèles se nourrit en filtrant les débris organiques et les micro-organismes de l'eau. Elle grossit de façon discontinue en subissant quatre mues successives. Au cours de chaque mue, elle se débarrasse de sa cuticule, ou exuvie, et secrète une nouvelle cuticule plus ample qui lui permet d'augmenter de volume et de taille.

. Le thorax

Le thorax est formé de trois segments non individualisés.

.L'abdomen

L'abdomen de forme cylindrique se compose de neuf segments, les sept premiers portent des plaques dorsales sclérifiées et des soies palmées caractéristiques des anophèles. Les larves des anophèles se tiennent de façon parallèle à la surface de l'eau avec leur face dorsale vers le haut. Les deux orifices respiratoires (stigmates) sont localisés sur le huitième segment.

Leur respiration est aérienne. L'absence de siphon respiratoire différencie les anophèles des autres moustiques. Le dernier segment porte l'anus (Holstein, 1949).

- La nymphe

La nymphe se présentant sous forme de virgule ou de pupa ne se nourrit pas. Les organes propres au stade larvaire (appareil buccal filtreur-broyeur, système digestif de détritophage-filtreur) sont remplacés par ceux propres à l'adulte qui étaient présents à l'état d'ébauches dans la larve (ailes, pattes, appareil buccal piqueur-suceur, système digestif d'hématophage) apparaissent. Son corps est composé de deux parties :

. Le céphalothorax qui porte deux trompettes respiratoires traversant la surface de l'eau, ces trompettes assurent la respiration aérienne de la nymphe.

. L'abdomen comprend huit segments bien visibles, la contraction de l'abdomen coordonne les mouvements saccadés de la nymphe. De la nymphe émerge un adulte, mâle ou femelle au bout de 24h en général (Holstein, 1949)

-L'adulte ou imago

Il comprend trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen.

. **La tête** : comporte deux gros yeux, une paire d'antenne de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle et la trompe ou proboscis représente les pièces buccales.

. **Le thorax** : est formé de trois segments (prothorax, mésothorax, métathorax) qui porte chacun une paire de patte. Sur le second et le troisième segment s'incèrent respectivement une paire d'ailes et une paire d'altères ou balanciers.

. **L'abdomen** : est formé de dix segments, dont sept sont bien visibles. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale reliée par une membrane. Les trois derniers segments portent l'anus et les appendices génitaux ou génitalias. L'ensemble trompe-tête-thorax-abdomen est dans le même alignement. Au repos cet alignement détermine par rapport au support un angle aigu caractéristique des anophèles (Holstein, 1949).

2.3 Lutte contre les vecteurs du paludisme

Il existe deux principales méthodes : le contrôle larvaire, le contrôle des moustiques adultes

2.3.1 Lutte anti-larvaire

Le contrôle larvaire ne peut être efficace que si les gîtes sont limités en nombre, facilement identifiables, accessibles et traitables. Il est plus utile dans les zones à population humaine dense avec peu de gîtes ; dans les climats arides ; pendant les périodes de sécheresse dans les zones endémiques quand les gîtes sont bien délimités, définis et traitables ; dans les camps de réfugiés, dans les zones à risque de paludisme et à faible pluviométrie (OMS, 2003).

A. La lutte physique

C'est une modification intentionnelle du biotope visant à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent. On distingue :

. le drainage

Il consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu naturel. Le drainage a l'avantage d'évacuer rapidement les eaux et d'entraîner les œufs et les larves vers des milieux défavorables à leur développement ou leur destruction rapide est assurée.

. la mise en boîte des eaux

Elle consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, et par conséquent réduire la superficie du gîte à empoisonner. Cette méthode est utilisée dans le cas de gîtes importants situés loin d'un récepteur naturel.

. le comblement

Il consiste à éliminer les gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne à l'aide de matériaux (pierres débris de construction).

. le boisement

Il s'agit de la plantation d'arbres, Eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau à faible débit (<http://lozere.org/perso/malaria/LUTTE-ANTILARVAIRE.htm>).

B. Lutte biologique

. Poissons larvivores

Les poissons larvivores se nourrissent des larves de moustiques. Les principales espèces sont :

- > *Gambusia affinis* est plus efficace dans les eaux claires
- > *Poecilia reticulata* est utilisé avec succès dans les eaux polluées de matières organiques. Cette espèce supporte des températures élevées que *Gambusia* et convient mieux donc dans les rizières des pays chauds (OMS, 2003).

. Bactéries Larvicides

Elles produisent des toxines qui tuent les larves après ingestion. La bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) est plus efficace dans l'eau propre, ne représente aucun danger pour les autres insectes, poissons, hommes et animaux supérieurs aux doses normales et suivant la formulation employée, son désavantage est que sa densité l'entraîne au fond du gîte alors que les larves d'anophèles se nourrissent en surface.

Bacillus sphaericus produit une toxine dont les effets sont semblables à celui du Bti mais plus efficace dans les eaux polluées (OMS, 2003).

C. La lutte chimique

Elle consiste à utiliser des corps chimiques qui tuent les larves et les pupes de moustiques. Leur usage se fait sur des gîtes larvaires qui ne peuvent être drainés ou comblés ou lorsque les autres méthodes de contrôle s'avèrent trop onéreuses ou impossibles. Il existe plusieurs sortes de larvicides chimiques :

. Le pétrole et ses dérivés

Sont utilisés pour les eaux stagnantes impropres à l'irrigation ou à la consommation par les animaux. Ils forment un film à la surface de l'eau, empêchant les larves de respirer.

. Les insecticides chimiques courants

Les organophosphorés en dépit des niveaux de résistance en augmentation dans certaines régions sont les plus utilisés.

Le Temephos (56-112 g/ha) du fait de sa faible toxicité sur les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde. Il peut être utilisé dans l'eau d'irrigation des récoltes alimentaires, pour le traitement des eaux de boisson mais il est toxique pour les poissons.

Le Fenathion (22-112 g/ha) peut être utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments (OMS, 2003).

. Régulateurs de croissance des insectes

Ce sont des composés chimiques hautement toxiques pour les larves de moustiques dont ils empêchent le développement en adultes. Leur coût élevé limite leur usage. Ces produits sont le Diflubenzuron (25-100 g/ha), le Methoprene (20-40 g/ha) et le Pyriproxyfen (5-10 g/ha) (OMS, 2003).

2.3.2 Lutte contre les adultes

- Pulvérisations intradomiciliares

Les pulvérisations intra domiciliares d'insecticides restent une option valable pour le contrôle du paludisme. L'application continue d'insecticides à grandes échelles n'est pas pérennisable à cause du coût, de la résistance acquise par le vecteur et des risques pour l'environnement.

Ces pulvérisations ne peuvent être employées avec succès que lorsque :

- la majorité des vecteurs est endophile ;

- la population vectrice est sensible aux insecticides choisis ;
- une fraction importante des maisons ou des structures situées dans les aires opérationnelles offre des surfaces pulvérisables (OMS, 2003).

- Moustiquaires et autres supports traités par insecticides

Dans de nombreux pays la mise en œuvre des programmes de moustiquaires imprégnés (MII), fait partie d'une approche intégrée de contrôle du paludisme. Toutefois, leur mise en place nécessite une adaptation aux conditions locales.

En tant que matériel de prévention et de contrôle du paludisme, le programme des (MII) se fixe sur certains principes de base :

- protection personnelle dans les groupes à haut risque
- contrôle de la transmission avec pour cible une couverture élevée

Les moustiquaires traitées aux pyrethrinoides, à cause de leur effet excito-répulsif sur la plupart des espèces vectrices, protègent plus que les moustiquaires non traitées.

Les rideaux, les hamacs traités avec les insecticides pyrethrinoides réduisent le contact homme vecteur (OMS, 2003).

- Amélioration de l'habitat humain

Elle permet d'empêcher l'entrée des moustiques et leur repos à l'intérieur. La protection par des moustiquaires aux fenêtres, aux avancées des toits, aux portes est une méthode efficace si elle est bien faite et entretenue. Les implantations de nouvelles habitations doivent être planifiées (plan, matériaux de construction, localisation par rapport aux gîtes) pour prévenir le paludisme (OMS, 2003).

- Répulsifs

Les répulsifs existent sous forme de crème, de lotion ou d'aérosol, qui peuvent être appliqués directement sur la peau ou sur les vêtements. L'usage des répulsifs est une mesure de protection individuelle.

- Spirales anti-moustiques

Les spirales sont très populaires et largement utilisés. Les spirales brûlent lentement et régulièrement pendant 6-8 heures, libérant l'insecticide dans l'air qui tue ou éloigne les moustiques à distance.

- Vêtements protecteurs

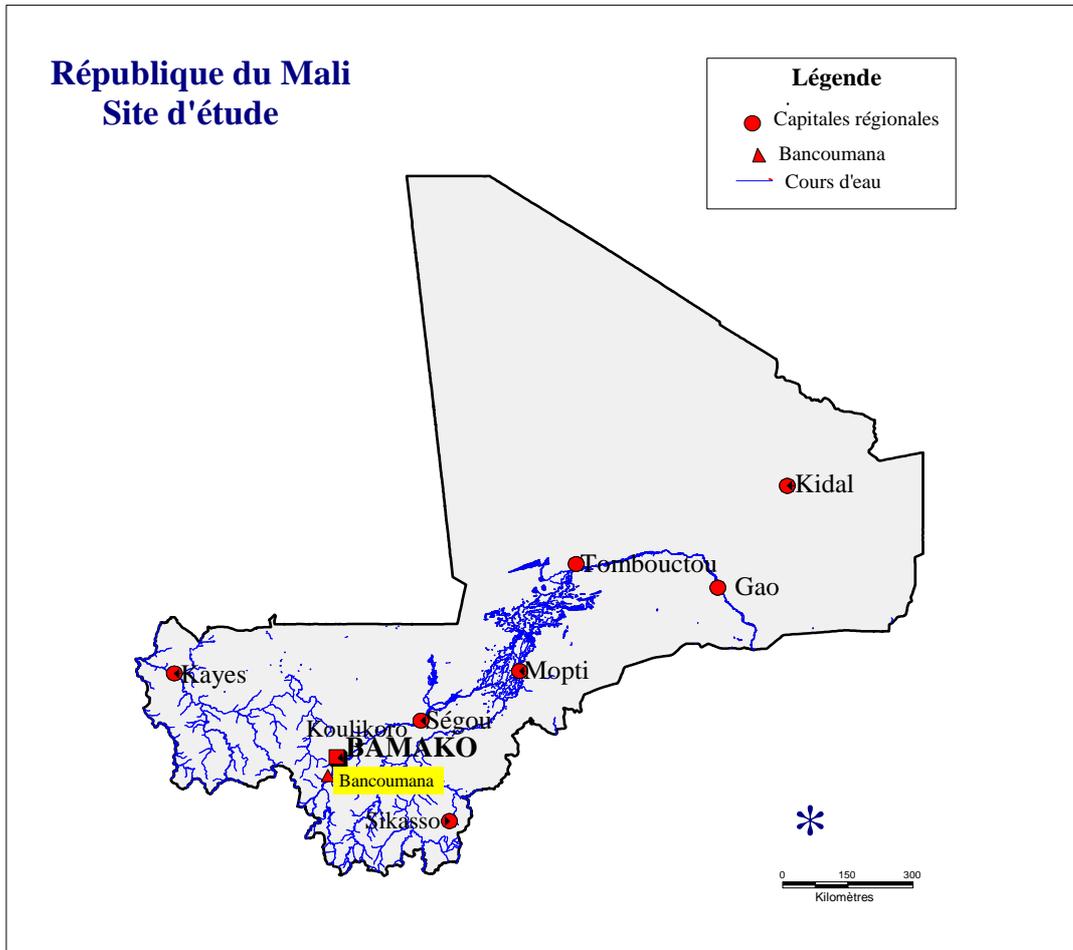
L'utilisation de certains vêtements couvrant la plus grande partie du corps fournit un certain niveau de protection personnelle contre les piqûres de moustiques (OMS, 2003).

- La lutte génétique

Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites (Fontenille, 2005).

3. Matériels et Méthodes

3.1. Lieu de capture des anophèles : Bancoumana



Source: Africa Data sampler (ADS), World Resources institutes

Figure 3: Carte du Mali indiquant le site de capture des moustiques.

La collecte des anophèles a eu lieu au village de Bancoumana. Il est situé à 60 km au Sud-ouest de Bamako à 8°20 longitude Ouest et à 12°20 latitude Nord en bordure de la plaine de la haute vallée du Niger (Djoliba) voir Fig.3. Il couvre une superficie de 2,5 km².

Il est limité au Nord-est par les villages de Kollé et Bally, au Nord par le village de Sibi, au Nord-ouest par le village de Samako, au Sud-ouest par le village de Nanguilabougou et au Sud-est par le fleuve Niger.

3.2 Période et type d'étude

L'étude s'est déroulée de Janvier 2007 à Septembre 2007. C'est une étude expérimentale conduite en condition de laboratoire à l'insectarium du Malaria Research and Training Center (MRTC).

3.3 Déroulement de l'expérience

3.3.1 Collecte des anophèles

Les femelles gorgées, semi gravides et gravides *d'An. gambiae s.l* ont été capturées dans les habitations humaines de 8h-12h à l'aide d'aspirateur à bouche (Coluzzi et Petrarca, 1973), puis transportés à l'insectarium (température 27°C, humidité relative 70%- 80%, photo périodicité 12 heures sur 12heures) du MRTC à Bamako. Les moustiques ont été maintenus pendant 2 jours avant leur mise en ponte individuelle.

3.3.2 Mise en ponte individuelle

Chaque femelle gravide a été placée à l'intérieur d'un tube Falcon de 50 ml dont le fond était garni par un papier buvard plongé à moitié dans de l'eau distillée, et l'ouverture recouverte par une tulle moustiquaire. Ces tubes ont été ensuite rangés sur un portoir puis placés dans l'insectarium pour oviposition.

3.3.3 Conditionnement des œufs et des femelles sauvages

Après 24h à 48h les femelles ayant pondu ont été récupérées puis conservées dans des tubes eppendorf de 0.5 ml numérotés contenant de l'éthanol à 80%. Une patte de chaque moustique a été prélevée pour son identification en formes moléculaires et / ou espèce (Fanello *et al*, 2002).

Les œufs de chaque ponte ont été conditionnés dans un plateau NALGENE (L = 30cm, l = 25cm, hauteur = 6cm) contenant 500 ml d'eau distillée. Des flotteurs ont été utilisés pour éviter la dispersion des œufs et leur accolement aux bordures. Chaque plateau portait le même numéro que le tube ayant servi à l'ovipositionnement de la femelle sauvage.

3.3.4. Elevage des larves et Collecte des nymphes

Toutes les larves de forme moléculaire M issues des pontes dont le résultat d'identification de la femelle sauvage a été confirmé, ont été élevées dans les plateaux. Chaque plateau recevait le même nombre de larves et la même quantité de nourriture. Ces larves ont été ainsi élevées dans les mêmes conditions jusqu'au stade nymphal. Les nymphes ont été collectées quotidiennement dans un pot, Puis placé à l'intérieur de nouvelles cages moyennes en vue de leur émergence.

3.3.5 Adultes

Les mâles et femelles de chaque émergence ont été séparés avant 24h de vie aérienne pour éviter tout accouplement. Ces moustiques ont été gardés dans des cages moyennes et nourris avec du jus sucré à 5%.

Les adultes de deux à trois jours d'âge ont été choisis de façon aléatoire pour constituer les différents groupes de traitement.

3.3.6 Procédure d'expérimentation

3.3.6.1 Première expérimentation : Traitement des femelles

Cette expérience avait pour but de comprendre l'influence de l'insémination sur la fécondité et la longévité.

➤ Femelles vierges

La virginité des femelles a été confirmée en disséquant 10 à 20 femelles de chaque cage d'émergence.

- **Sous groupe 1:** 300 femelles réparties entre 3 cages moyennes en raison de 100 moustiques par cage recevaient uniquement du jus sucré 5%.

- **Sous groupe 2:** 400 femelles réparties entre 4 cages moyennes en raison de 100 moustiques par cage recevaient en plus du jus sucré à 5% un repas de sang fourni pendant deux jours consécutifs durant le premier cycle gonotrophique et tous les 4 à 5 jours pour les autres cycles.

➤ Femelles en contact avec les mâles

Ces femelles ont passé deux nuits consécutives avec des mâles. Elles étaient réparties en deux sous groupes :

- **Sous groupe 1 :** 400 femelles réparties entre 4 cages moyennes en raison de 100 moustiques par cage ont été nourris uniquement au jus sucré à 5%.

-**Sous groupe 2 :** 400 femelles réparties entre 4 cages moyennes en raison de 100 moustiques par cage ont subi le même traitement que les femelles vierges du sous groupe 2.

3.3.6.2 Deuxième expérimentation : Traitement des mâles et des femelles

Le but de cette seconde expérience était de mesurer la longévité des mâles quand ils sont soumis à une intense activité sexuelle.

➤ **Mâles vierges**

Ces mâles, dès leur séparation avant 24h n'ont jamais été en contact avec les femelles. Il y avait au total 8 cages contenant chacune 100 moustiques.

➤ **Mâles non vierges et les trois groupes de femelle**

Il y avait 4 cages de mâles. Ces mâles étaient soumis à une activité sexuelle durant six nuits consécutives, à l'issue desquelles trois groupes de femelles ont été constitués. Chaque groupe a passé deux nuits avec les mâles avant d'être retiré puis remplacé par un autre groupe ; ainsi de suite jusqu'au troisième groupe de femelles.

Dans cette expérience les mâles aussi bien que les femelles étaient nourris uniquement avec du jus sucré à 5%.

3.3.7 Mesure de la longévité

La longévité de chaque moustique a été mesurée en comptant le nombre de jours qui sépare la date d'émergence de l'imago à sa mort.

Les moustiques morts ont été collectés entre 8h-9h du matin tous les jours du début jusqu'à la fin des expériences. Les mâles ont été conservés individuellement dans des tubes eppendoff 0.5ml contenant de l'éthanol 80% et les femelles faisaient l'objet de dissection préalable pour évaluer leur état d'insémination avant d'être conservées comme les mâles. La dissection consistait à enlever la spermathèque à l'aide d'une loupe binoculaire et de faire la lecture au microscope pour savoir si elle était inséminée ou pas.

3.3.8 Mesure de la fécondité

20 à 25 femelles ont été disséquées par cage après deux repas de sang et cela trois jours après la dernière prise de sang (1^{er} cycle gonotrophique). Cette dissection a été faite sous une loupe binoculaire pour dénombrer les œufs développés.

3.3.9 Mesure de la taille des ailes

Conventionnellement, les entomologistes admettent que la taille d'un insecte correspond à la dimension de son aile. Sur cette base la taille des moustiques a été déterminée en mesurant une de leurs ailes. Cette mesure a été faite sous une loupe binoculaire dont l'un des oculaires était muni d'une règle millimétrée. Les ailes étaient d'abord bien étalées dans le sens horizontal sur une lame porte objet puis recouvertes d'une lamelle fixée à l'aide d'une goutte de vernis incolore. Les repères de mesure ont été les mêmes utilisés par Briegel, 1990 ; Jahan et Hurd 1997; Yaro *et al.* 2006b. Il s'agissait de mesurer la distance séparant le point ALULA (creux au niveau du bout de l'aile rattachée au thorax) du bout inférieur de l'aile (vers l'abdomen). Pour cette mesure certains mâles et femelles ont été tiré au hasard.

3.4 Identification des moustiques par PCR (Annexe)

La technique de Fanello *et al.*, 2002 qui permet d'identifier l'espèce et la forme moléculaire d'*An. gambiae* s.s en même temps a été utilisée.

3.5 Saisie et analyse des données

Les données initialement reportées sur des feuilles de paillasse ont été saisies dans le logiciel Microsoft Excel puis analysées à l'aide de SPSS 12.0.

4. Résultats

4.1. Première expérimentation : Etude de la fécondité et de la longévité des femelles.

4.1.1 Evaluation de l'insémination

Tableau 1: Taux d'insémination des femelles dans les différentes cages.

N° Cages	Nombre dissequé	Nombre spermes positifs	Taux d'insémination (%)
1	110	70	63,63
2	92	50	54,34
3	86	47	54,65
4	107	63	58,87
5	113	59	52,21
6	93	41	44,08
7	96	54	56,25
Moy. / Total	697	384	55,09

Les taux d'insémination dans les différentes cages ont varié entre 44,08% et 63,63%. Il n'y avait pas de variation significative entre les cages. ($P= 0,181$; $X^2= 8,877$). Plus de la moitié (55,09% ; $N= 384$) des femelles mises avec les mâles ont été inseminées.

4.1.2 Etude de la fécondité

4.1.2.1 Effet de l'insémination sur la fécondité

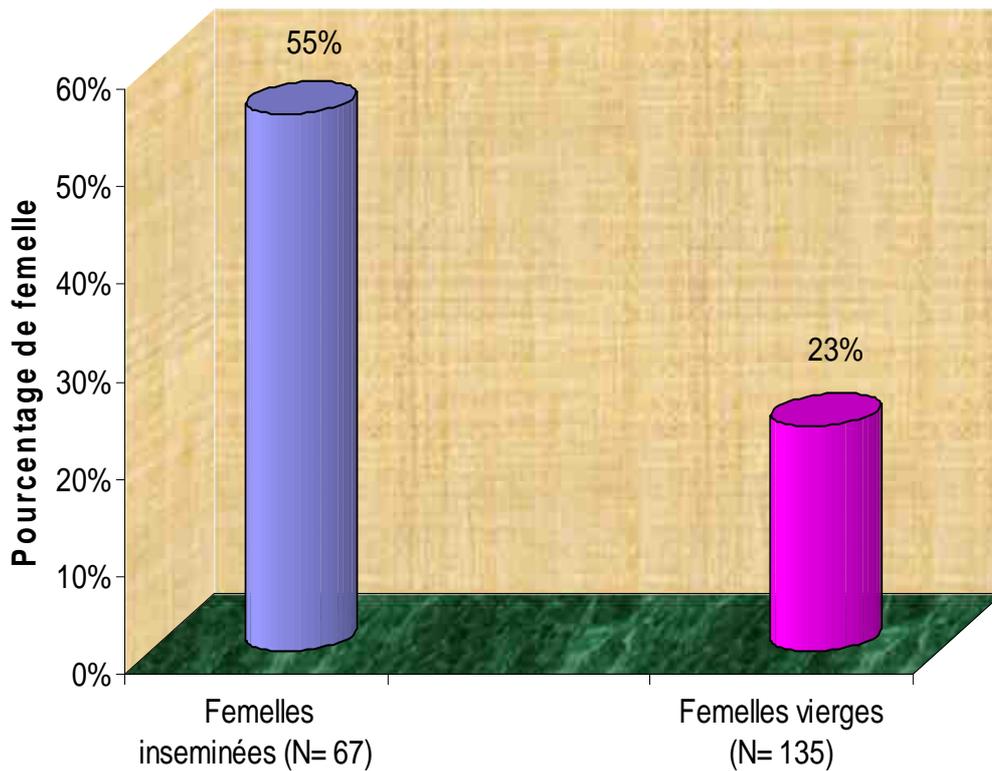


Figure 4: Pourcentage de femelles ayant développé des œufs après deux repas de sang.

Sur un total de 202 femelles disséquées le 4^{ème} jour après le premier repas sanguin, 64 ont développé des œufs. Le pourcentage de femelles inséminées ayant développé des œufs (55% ; N= 67) était largement supérieur à celui des femelles vierges (23% ; N= 135) : ($X^2= 20,869$; $P < 0,0001$).

Tableau 2: Comparaison du nombre moyen d'œufs développés par les femelles inséminées et les femelles vierges dans les différentes cages.

Femelles inseminées			Femelles vierges		
N° Cages	Oeufs	N	N° Cages	Oeufs	N
1	90,08	13	5	68,00	9
2	73,27	11	6	69,17	6
3	107,43	7	7	64,25	4
4	65,33	6	8	62,00	2
Moy./ Total	84,35	37	Moy./Total	67,05	21

NB : Moy. : Moyenne N : nombre de femelle

Le nombre moyen d'œufs développé par les femelles inseminées dans les différentes cages variait de 65,33 à 107,43. Celui développé par les femelles vierges a varié de 62,00 à 69,17. La différence n'était pas statistiquement significative entre le nombre moyen d'œufs développés par les femelles inséminées (nombre moyen œufs= 84,35) et celui des femelles vierges (nombre moyen œufs= 67,05), (P= 0,054 ; F= 3,884 ; dl= 1).

4.1.2.2 Effet de la taille de la femelle sur la fécondité

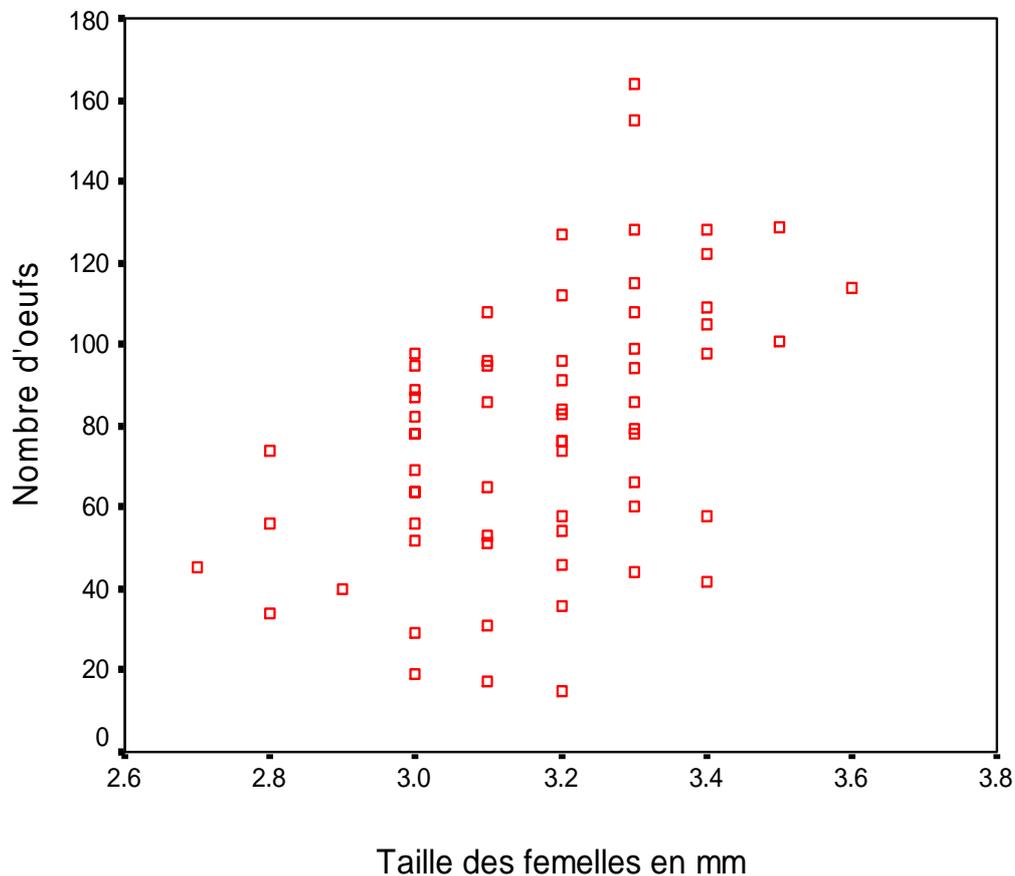


Figure 5: Corrélation entre le nombre d’œufs développés et la taille des femelles.

L’analyse de cette figure montre que la plupart des femelles (inseminées et vierges) ayant développé beaucoup d’œufs avait des ailes qui étaient comprises entre 3 et 3,4 mm. Le plus grand nombre d’œufs était développé par les femelles de grandes taille. Montrant ainsi que la quantité d’œufs développés était proportionnelle à la taille de la femelle ($R= 0,109$).

4.1.3 Etude de la longévité

4.1.3.1 Effet du régime alimentaire sur la longévité

Tableau 3: Comparaison de la durée de vie moyenne des femelles inséminées à celle des femelles non inséminées en fonction du régime alimentaire.

Femelles	Sucre			Sucre +sang				
	Nombre moyen de jours	Min	Max	N	Nombre moyen de jours	Min	Max	N
Non Inséminées	17,26	6	43	337	20,22	7	48	272
Inséminées	18,00	7	26	191	21,69	6	48	139
Moy./Total	17,53	6	43	528	20,71	6	48	411

Il ressort de ce tableau que les femelles inseminées vivaient un peu plus longtemps (18 Jours) que les femelles non inseminées (17,26 jours) lorsqu'elles ne recevaient que de jus sucré ($P= 0,047$; $F= 3,948$). Par contre la différence n'était pas significative quand elles recevaient du sang en plus du jus sucré ($P= 0,083$; $F= 3,020$) avec respectivement 20,22 jours pour les non inseminées et 21,69 jours pour les inseminées.

De manière générale les femelles ayant reçu du sang en plus du jus sucré ont vécu plus longtemps que celles nourries uniquement au jus sucré avec respectivement 20,69 et 17,64 jours ($P < 0,0001$; $F= 59,416$).

Tableau 4: Comparaison de la durée de vie moyenne des femelles inséminées dans les différentes cages suivant le régime alimentaire.

N° Cages	Regime alimentaire	Durée de vie des femelles (en jours)			N
		Moyenne	Minimum	Maximum	
1	Sang + Sucre	22,69	8	48	53
2		20,28	7	46	42
3		21,81	6	43	44
Moy./ Total		21,69	6	48	139
3	Sucre	18,16	7	24	49
4		16,95	8	24	47
5		18,92	10	26	41
6		18,07	7	24	54
Moy / Total		18,00	7	26	191

Les femelles inséminées bénéficiant du sang en plus du jus sucré 5% (N = 139) ont eu une durée de vie moyenne supérieure à celle bénéficiant uniquement du jus sucré 5% (N= 191) avec respectivement 21,69 et 18 jours (P <0,0001 ; F= 27,761).

Tableau 5: Comparaison de la durée moyenne de vie des femelles vierges dans les différentes cages suivant leur régime alimentaire.

N° Cages	Regime alimentaire	Durée de vie des femelles (en jours)			N
		Moyenne	Minimum	Maximum	
1	Sang + Sucre	20,74	7	42	51
2		20,74	8	48	50
3		20,37	9	42	56
Moy./ Total		20,61	7	48	157
4	.	15,49	7	22	55
5	Sucre	16,83	7	25	49
6	.	17,07	8	27	56
Moy / Total		16,45	7	48	160

Les femelles vierges (N = 157) qui ont bénéficié du sang en plus du jus sucré ont vécu plus longtemps que les femelles vierges (N = 160) nourries uniquement au jus sucré : 20,61 et 16,45 jours respectivement (P < 0,0001 ; F= 32,480).

4.1.3.2 Effet de la taille sur la longévité

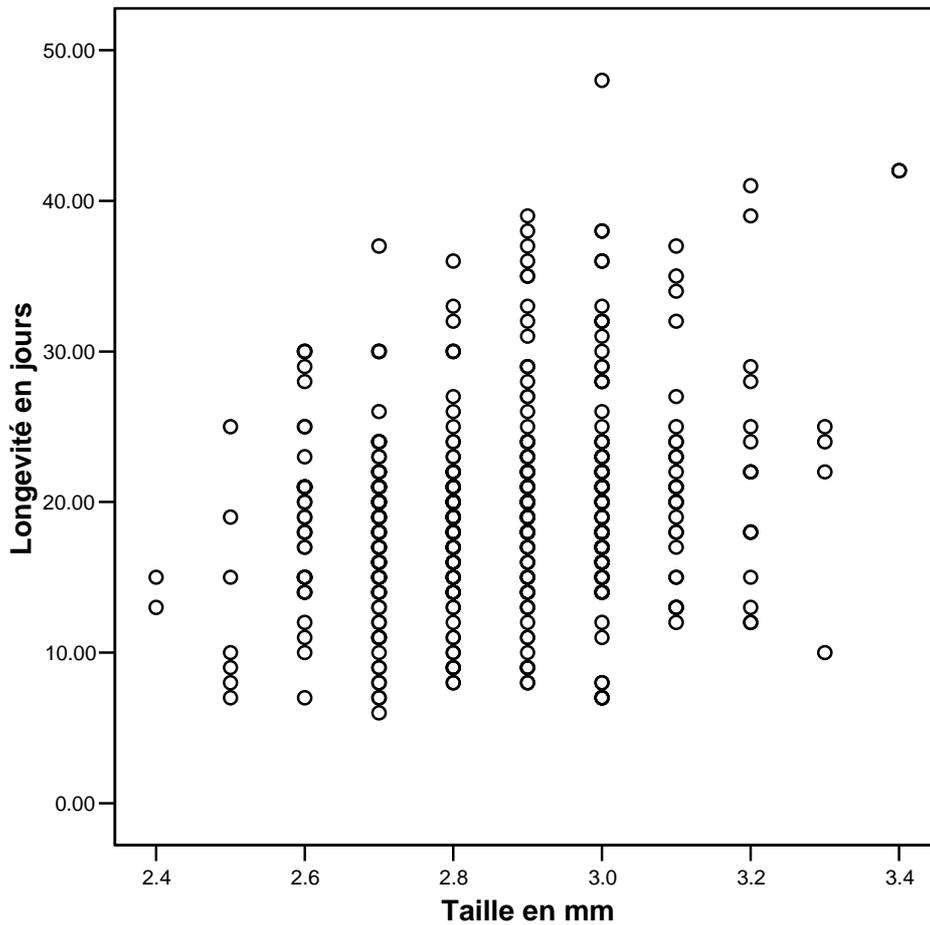


Figure 6 : Rapport entre la taille et la longévité des femelles.

Il ressort de cette figure que la majorité des femelles qui ont vécu plus de 20 jours ont une taille supérieure à 2,8 mm. Les pics sont généralement observés chez les femelles de grande taille.

La longévité des femelles croît avec leur taille d'une manière générale

$R= 0,239$.

4.2 Deuxième expérimentation : Influence de l'intense activité sexuelle sur la longévité des mâles.

4.2.1 Variation du taux d'insémination en fonction de l'intensité de l'activité sexuelle des mâles.

Tableau 6: Variation du taux d'insémination des femelles en fonction de l'intensité de l'activité sexuelle des mâles.

Groupes de Femelles	Nombre de Repetitions	% de femelles inséminées	Nombre de Femelles
1	1	61,40	114
	2	56,10	107
	3	49,10	107
	4	48,60	109
	Moy. / Total		53,80
2	1	56,30	103
	2	50,00	112
	3	54,40	114
	4	42,20	116
	Moy. / Total		50,72
3	1	41,20	97
	2	30,60	111
	3	30,00	109
	4	20,30	118
	Moy. / Total		30,52

La moyenne du taux d'insémination des femelles du groupe 1 (femelles étant ensemble avec les mâles durant leur 1^{ère} et 2^{ème} nuits d'activité sexuelle) était de 53,80%. Celui du groupe 2 (2^{ème} et 4^{ème} nuits) était de 50,72% contre 30,52% pour le groupe 3 (5^{ème} et 6^{ème} nuits).

Il ressort de cette analyse que le taux d'insémination chez les trois groupes de femelles diminuait en fonction de l'ordre d'exposition ce qui témoigne que plus les mâles sont sollicités plus leur capacité d'insémination diminue ($X^2= 52,902$; $P < 0,0001$).

4.2.2 Etude de la longévité

4.2.2.1 Effet de l'activité sexuelle des mâles sur leur longévité

Tableau 7: Longévité des moustiques mâles vierges dans les différentes cages de répétition.

N° Cages	Nombre de jours moyens	Minimum	Maximum	N
1	16,74	5	36	103
2	19,05	10	35	77
3	16,37	5	36	112
4	18,47	10	33	94
5	18,07	5	34	117
6	20,58	11	35	96
7	20,12	5	36	118
8	23,26	11	41	97
Moy. / Total	19,02	5	41	814

Les mâles ont vécu en moyenne 19, 02 jours. Cette durée de vie moyenne a varié de manière significative entre les différentes cages (16,37 à 23,26 jours ; $P < 0,0001$; $F = 10,607$).

Tableau 8: La longévité des mâles non vierges dans les différentes cages d'accouplement après six nuits d'activité sexuelle.

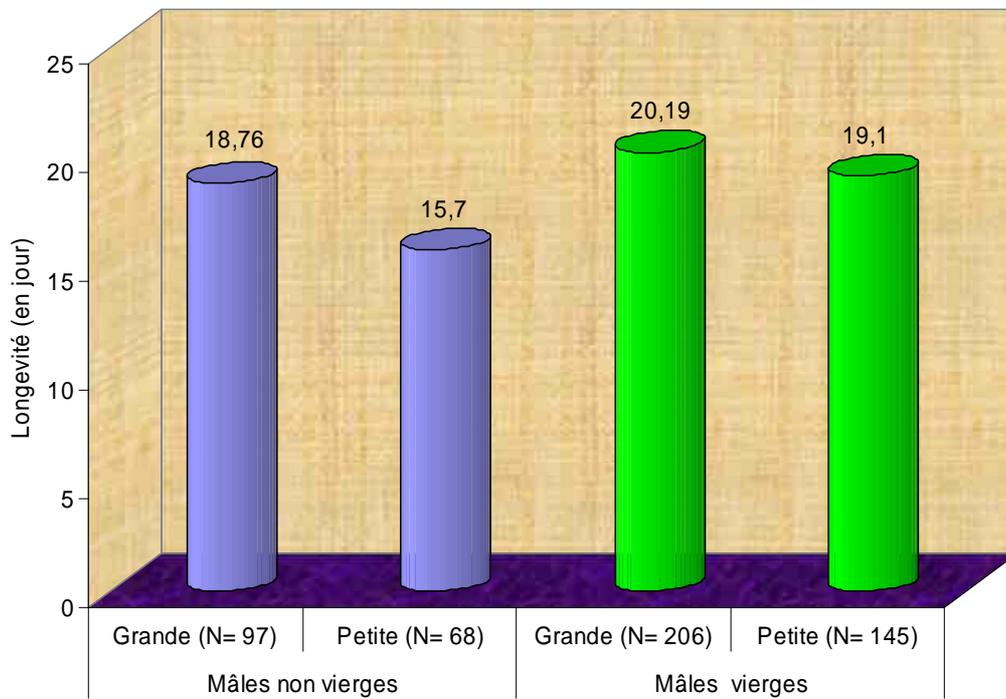
Durée de vie des mâles non vierges (en jours)				
N° Cages	Moyenne	Minimum	Maximum	N
1	15,63	7	32	91
2	17,52	7	36	91
3	18,63	7	42	95
4	18,94	6	40	96
Moy. / Total	17,71	5	42	373

Chez les mâles non vierges, la durée moyenne de vie a varié entre 15,63 et 18,94 jours avec une moyenne générale de 17,71 jours. La différence entre cages était significative ($P = 0,007$; $F = 3,971$).

D'une manière générale l'analyse des tableaux 7 et 8 montre qu'il y avait une différence significative entre la durée de vie moyenne des mâles vierges (19,02 jours ; Tab.7) et celle des mâles non vierges (17,71 jours ; Tab. 8).

$P = 0,004$. Les mâles vierges vivaient plus longtemps que les mâles ayant mené des activités sexuelles.

4.2.2.2 Effet de la taille des mâles sur leur longévité



Grande : taille $\geq 3\text{mm}$; **Petite** : taille $< 3\text{mm}$

Figure 7: Comparaison de la longévité des mâles en fonction de leur taille.

Cette figure montre que chez les mâles non vierges, les grandes tailles (18,76 jours) ont vécu plus longtemps que les petites tailles (15,70 jours) $P=0,01$; $F=6,884$. Par contre chez les vierges la durée moyenne de vie est comparable entre les mâles de grande taille (20,19 jours) et les mâles de petite taille (19,10 jours) ; $P=0,178$; $F=1,820$.

4.2.2.3 Longévité des femelles inséminées en fonction de l'intensité de l'activité sexuelle des mâles.

Tableau 9: Comparaison entre la longévité des groupes de femelles suivant la présence ou l'absence de sperme.

Durée de vie des femelles (en jours)				
Femelles	Moyenne	Minimum	Maximum	N
Non Inséminées	15,34	7	32	734
Inséminées	14,96	6	27	583
Moy. / Total	15,17	6	32	1317

Après analyse de toutes nos femelles disséquées (N= 1317) il ressort que la durée de vie moyenne des femelles inseminées (présence de sperme : 14,96 jours ; N= 583) ne diffère pas de manière significative de celle des femelles non inseminées (absence de sperme : 15,34 jours ; N= 734). P= 0,68 ; F= 3,335.

Tableau 10: Comparaison de la longévité des femelles inséminées suivant leur ordre d'exposition aux mâles.

Durée de vie des femelles en jours				
Ordre	Moyenne	Minimum	Maximum	N
1	14,53	6	23	227
2	15,14	7	27	225
3	15,41	6	25	131
Moy. / Total	14,96	6	27	583

La longévité des femelles inséminées croît en fonction de l'ordre d'exposition aux mâles.

C'est-à-dire que les femelles inséminées durant les 1^{ère} nuits d'activité sexuelle des mâles semblaient vivre moins longtemps que celles inséminées durant les moments d'intense activité des mâles mais la différence n'était pas statistiquement significative ($P= 0,054$; $F= 2,926$).

5. Commentaires et discussion

51. Première série d'expérimentation

5.1.1 Fécondité des femelles

Sur un total de 135 femelles vierges disséquées 23% ont développé des œufs. Par contre, chez les femelles inséminées, la proportion ayant développé des œufs était de 55% (N= 67) voir *Fig.4*, soit presque le double de celle des femelles vierges.

De même le nombre moyen d'œufs développés par les femelles inséminées (84,35 œufs) a dépassé celui des femelles vierges (67,05 œufs), voir *Tab.2*. Ce ci explique clairement que l'insemination a un effet positif sur la production d'œufs chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae*. Ces résultats sont comparables à ceux de Klowden *et al*, 1991 qui ont eux aussi trouvé que l'insémination augmentait le nombre d'œufs à cause du transfert des glandes accessoires masculines lors de l'accouplement chez *Ae. Aegypti*. En 2004 le même auteur (Klowden) observait la même augmentation chez *An. gambiae* mais sans que les glandes accessoires masculines ne soient la cause fondamentale. Le nombre d'œufs produits par la femelle augmentait avec la taille de celle-ci (*Fig. 5*) Même si la qualité du repas de sang affecte aussi le nombre d'œufs (Briegel, 1990), c'est surtout la taille de la femelle qui est le facteur déterminant (*Fig.5*). Okanda *et al*, 2002 ; Yaro *et al*, 2007 ont eu un résultat similaire car ils ont trouvé une corrélation positive entre le nombre d'œufs développés et la taille de la femelle. Ce qui implique que les femelles de grandes tailles contribuent le plus dans la prolifération des moustiques par leurs pontes de grande taille.

5.1.2 Longévité des femelles

Lorsque le régime alimentaire est à base de jus sucré plus du sang la comparaison de la durée de vie moyenne des femelles inséminées (21,69 jours, N= 139) à celle des femelles vierges (20,22 jours, N= 272) n'a pas montré de différence significative ($P= 0,083$; *Tab.3*). Cependant les femelles inséminées (18 jours, N= 191) ont vécu un peu plus longtemps que les femelles vierges (17,26 jours, N= 337) lorsque le régime est uniquement à base de jus sucré ($P = 0,047$; *Tab.5*). Ces résultats montrent que l'insémination n'a pas eu un effet positif sur la longévité des femelles lorsque le régime alimentaire est à base de sang et de jus sucré. Par contre, l'insémination semble avoir un léger effet positif sur la longévité des femelles quand le régime alimentaire est uniquement à base de jus sucré.

La répartition des femelles suivant leur régime alimentaire a montré que les femelles inséminées ayant bénéficié du sang en plus du jus sucré (21,69 jours, N= 139) vivaient considérablement plus longtemps que celles nourries uniquement au jus sucré (18 jours, N= 191) avec une différence significative ($P < 0,0001$; *Tab.4*). La même différence a été observée entre les femelles vierges nourries au sang en plus du jus sucré (20,61 jours, N= 157) et les femelles vierges nourries uniquement au jus sucré (16,45 jours, N= 160), $P < 0,0001$; *Tab. 4*. Ce constat pourrait vouloir dire que les femelles qui réussissent à se gorger vivent plus longtemps et par conséquent elles sont plus susceptibles à transmettre le parasite.

Gary et Foster en 2001 ont trouvé de résultats similaires avec des femelles d'*An. gambiae* en Colombie où ils ont comparé quatre groupes de femelles nourries respectivement à l'eau, au jus sucré à 10%, au sang humain, au sang humain plus jus sucré à 10%. Ils ont conclu que le dernier groupe a vécu plus longtemps et de façon très significative que les autres groupes.

D'une manière générale nous avons trouvé que les femelles de grande taille semblent vivre plus longtemps que celles de petites tailles (*Fig.6*).

5.2 Deuxième série d'expérimentation

5.2.1 Variation de l'activité sexuelle des mâles

Le taux moyen d'insémination chez les femelles décroissait au fur et à mesure que les mâles recevaient un nouveau groupe de femelles vierges toutes les deux nuits (53,80% ; 50,72% ; et 30,52% ; $P < 0.0001$; *Tab.6*). Etant donné que dans nos expérimentations nous n'avons pu mesurer directement l'accouplement chez les mâles, nous avons supposé une forte participation des mâles à l'accouplement lorsque le du taux d'insémination est élevé chez les femelles et sachant aussi qu'un mâle ne peut accoupler plus de cinq femelles. Ces résultats confirment que le pouvoir d'insémination des mâles diminue avec l'intensité de l'activité sexuelle. Ce résultat va dans le même sens que celui de Huho *et al* en 2006 qui ont montré que le nombre de spermatozoïdes dans les organes génitaux du mâle diminue avec l'activité sexuelle et l'âge, ce qui expliquerait le faible taux d'insémination observé avec les femelles du troisième groupe.

5.2.2 Longévité des mâles

Les mâles vierges (19,02 jours, $N = 814$) ont plus longtemps vécu que les non vierges (17,71 jours, $N = 373$) avec une différence statistiquement significative ($P = 0,004$, *Tab.8*). Ce résultat témoigne que les mâles en contact avec les femelles ont dépensé plus d'énergie dans la compétition pour les femelles en plus de l'énergie pour la survie. Ce qui explique la différence entre leur durée de vie et celle des mâles vierges qui n'ont dépensé de l'énergie que pour la survie.

En effet, chez les mâles vierges, la taille n'a eu une influence sur leur longévité ($P= 0,178$; *Fig.7*).

Par contre cette influence était significative pour les non vierges (Longévité moyenne des mâles de grande taille 18,76 jours contre 15,7 jours pour les mâles de petite taille $P= 0,01$, *Fig.7*).

Charwood *et al* en 2002 ont montré aussi que le succès du mâle *d'An. gambiae* dans l'accouplement dans les essaims n'était pas influencé par sa taille. Nos mâles de grandes tailles aussi bien que de petites tailles se sont accouplés avec les femelles.

Ces résultats suggèrent que l'accouplement réduit la longévité des mâles de façon générale (*Tab.8*), et il est plus coûteux pour les mâles de petites tailles (*Fig.7*).

6. Conclusion et recommandations

Les résultats de ces expériences suggèrent que :

- L'insémination joue un rôle déterminant dans la fécondité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae* qui croît avec la taille de la femelle.
- L'insémination et la taille influencent la fécondité lorsque le vecteur dispose du repas de sang.
- La disponibilité du sang en plus du jus sucré influence de façon positive la longévité de la femelle, par contre l'insémination n'accroît pas la longévité de la femelle.
- Le pouvoir d'insémination des mâles décroît avec l'intensité de l'activité sexuelle, ce qui pourrait être un paramètre important en cas de lâchages de mâles stériles. Six nuits d'activité sexuelle diminuent de façon considérable la durée de vie des mâles.
- L'activité sexuelle est plus coûteuse pour les mâles de petites tailles.

De ces résultats, nous recommandons :

- Au ministère de la recherche de financer et d'encourager de telles études qui pourront avoir une contribution de taille dans la planification de la faisabilité de la lutte génétique.
- Aux chercheurs de mener des études similaires sur le groupe *An. funestus.* ; et les autres membres du complexe *An. gambiae*. Cela permettra aussi de mieux comprendre la relation entre la longévité et l'activité reproductrice chez ces vecteurs. A savoir que de légères différences dans la longévité chez la femelle peuvent épidémiologiquement entraîner des différences très importantes dans les capacités vectorielles.

7. Bibliographie

1. Adelaide Tardin Monerat, Maurilio José Soares, José Bento Pereira Lima, Goreti Rosa-Freitas, Denise Valle. *Anopheles albitarsis* eggs: ultrastructural analysis of chorion layers after permeabilization. *Journal of insect Physiology* **28** (1999) 000-000.
2. Anonyme. COMITE OMS D'EXPERTS DU PALUDISME, 2005. Vingtième rapport.
3. Aultman K.S, B.J. Beaty, and E.D. Walker. Genetically manipulated vectors of human disease: a practical overview. *Trends Parasitol*, 2001. **17**(11): p. 507-9.
4. Bernadette J Huho, Kija R Ng'habi, Gerry F Killeen, Gamba Nkwengulila, Bart GJ Knols and Heather M Ferguson. A reliable morphological method to assess the age of male *Anopheles gambiae*. *Malar J*, 2006. **5**: p. 62.
5. Briegel H. Fecundity, metabolism, and body size in *Anopheles* (Diptera: Culicidae), vectors of malaria. *J Med Entomol*, 1990. **27**(5): p. 839-50.
6. Brooke BD, Kloke G, Hunt RH, Koekermor LL, Temu EA, Taylor ME, Small G, Hemingway J, Coetzee M. Bioassay and biochemical analyses of insecticide resistance in southern Africa *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Res* 2001, 91:265-273.

7. Chahad-Ehlers S, Lozovei AL, Marques MD. Reproductive and post-embryonic daily rhythm patterns of the malaria vector *Anopheles (kerteszia) cruzii*: aspects of the life cycle. *Chronobiol Int*, 2007. 24(2): 289-304.
8. Chandre F. DF, Manga L, Akogbeto M, Faye O, Mouchet J, Guillet P. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*. *Bull Wealth Organ* 1999, 77: 230-234.
9. Charlwood J.D, Pinto J, Sousa C.A, Ferreira C, Do Rosario V.E. Male size does not affect mating success (of *Anopheles gambiae* in Sao Tome). *Med Vet Entomol*, 2002. 16(1): p. 109-11.
10. Clements A, the Biology of Mosquitoes. Development, Nutrition and Reproduction, Chapman & Hall (1992).
11. Coetzee M, Craig M and le Sueur D. Distribution of African Malaria Mosquitoes Belonging to the *Anopheles gambiae* Complex. *Parasitology Today*, 2000. vol. 16, no. 2.
12. Coluzzi M. and Petrarca V. Aspirator with paper cup for collecting mosquitoes and others insects. *News*, 1973. 33:249-250.
13. Coluzzi, M., Sabatini, A., Petrarca, V., et al. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1979. 73, 483-497.

14. Coluzzi M, Sabatini A., Della Torre A, et al. A polytene chromosome analysis of the *Anopheles gambiae* species complex. *Science*, 2002. 298 (5597), 1415-1418.
15. Fanello C, F. Santolamazza, and A. Della Torre. Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med Vet Entomol*, 2002. **16**(4): p. 461-4.
16. Favia G, Lanfrancotti A, Spanos L, Siden-Kiamos I, Louis C. Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol*, 2001. **10**(1): p. 19-23.
17. Fontenille D. et coll., Vecteurs du paludisme : du terrain à la génétique moléculaire, recherches en Afrique.
Rev epidemiol santé publique 2005, 53: 283-290
18. Foster, W.A. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Annu Rev Entomol*, 1995. **40**: p. 443-74.
19. Gary RE, Foster WA. Effects of available sugar on the reproductive fitness and vectorial capacity of the malaria vector *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 2001. 38, 22-28.
20. Gibson G. Genetics, ecology and behavior of anophelines. In Bock and Cardew [eds.], *Olfaction in mosquito-host interactions*. Wiley, New York. 1996. pp. 22- 47.

21. Guerin PJ, Olliaro P, Nosten F, Laxminarayan R, Binka F, Kilama WL, Ford N, White NJ. Malaria: current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. *Lancet Infect Dis* 2002, 2:564-573.

22. Haddow, A. J. Studies of the biting habits of African mosquitoes. An appraisal of methods employed, with special reference to the 24-hour catch. *Bulletin of Entomological Research*, 1954. **45**, 199 – 242.

23. Holstein M. Guide pratique de l'anophélisme en Afrique de l'Ouest Française (AOF), 1949.

24. Ito J, Ghosh A, Moreira LA, Wimmer EA, Jacobs-Lorena M. Transgenic anopheline mosquitoes impaired in transmission of a malaria parasite. *Nature* 2002, 417: 452-455

25. Jahan, N. and H. Hurd. The effects of infection with *Plasmodium yoelii nigeriensis* on the reproductive fitness of *Anopheles stephensi*. *Ann Trop Med Parasitol*, 1997. **91**(4): p. 365-9.

26. Kaufmann, C. and H. Briegel, Flight performance of the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles atroparvus*. *J Vector Ecol*, 2004. **29**(1): p. 140-53.

27. Klowden, M. J. and G. M. Chambers. Male accessory gland substances activate egg development in nutritionally stressed *Aedes aegypti* mosquitoes. *J. Insect Physiol*, 1991. 37:721-726.

28. Lengeler, C. Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004(2): p. CD000363
29. Marc J Klowden, Richard C Russell. Mating affects egg maturation in *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). *Vector Ecol.* 2004 Jun; **29** (1): 135-9.
30. Moreira AL, Ito J, Ghosh A, Devenport M, Zieler H, Abraham EG, Crisanti A, Nolan T, Catteruccia F, Jacobs-lorena M. Bee venom phospholipase inhibits malaria parasite development in transgenic mosquitoes. *J Biol Chem* 2002, 277:40839-40843.
31. Nayar, J.K. and D.M. Sauerma, Jr. The effects of nutrition on survival and fecundity in Florida mosquitoes. Part 3. Utilization of blood and sugar for fecundity. *J Med Entomol*, 1975. **12**(2): p. 220-5.
32. Okanda, F.M., et al. Behavioural determinants of gene flow in malaria vector populations: *Anopheles gambiae* males select large females as mates. *Malar J*, 2002. **1**: p. 10.
33. OMS. Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, 2003.
34. Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecines et maladies infectieuses* 37 (2007) 153-161.

35. PNLP- Mali. Rapport de la collecte des données de base pour le suivi et l'évaluation des interventions de lutte contre le paludisme, 2004.

36. Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul S.S, Cox-Singh J, Thomas A and Conway DJ. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. Lancet 2004, 363: 1017-1024.

37. Tabachnick WJ. Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *J Med Entmol*, 2003, 40:597-606.

38. Takken, W. and Knols, B.G. Odor-mediated behavior of Afro tropical malaria mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 1999. 44, 131-57.

39. Touré Y. T, 1979. Bioécologie des anophèles (Diptera, Culidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft. Thèse 3^{ème} cycle en biologie animale, option entomologie, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako, Mali.

40. Touré, Y.T., The current stage of study of malaria vectors and vectorial campaign in West Africa. *Trans.r.Soc.Trop.Med.hyg*, 1989. 83, 39-41.

41. Touré, Y.T., *et al.*, Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae s.str.* in Mali, West Africa. *Genetica*, 1994. **94**(2-3): p. 213-23.
43. Tripet F, Touré Y.T, Taylor C.E, Norris D.E, Dolo G and Lanzaro G.C. DNA analysis of transferred sperm reveals significant levels of gene flow between molecular forms of *Anopheles gambiae*. *Mol Ecol*, 2001. **10**(7): p. 1725-32.
44. Van Handel E. Metabolism of nutrients in the adult mosquito. *Mosq. News*, 1984. 44: 573-579.
45. White G.B. *Anopheles gambiae* complex and disease transmission in Africa, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 59 (1974), pp. 291-296.
46. Yaro, A.S, Dao A, Adamou A, Crawford JE, Ribeiro J.M.C, Gwadz R, Traoré SF, and Lehmann T. The distribution of hatching time in *Anopheles gambiae*. *Malar J*, 2006a. **5**: p. 19.
47. Yaro AS, Dao A, Adamou A, Crawford JE, Traoré SF, Touré AM, Gwadz R, Lehmann T. Reproductive output of female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): comparison of molecular forms. *J Med Entomol*; 2006b Sep; 43 (5):833-9.

48. Yaro A.S, 2007. Impact de l'infection à *Plasmodium falciparum* sur les taux d'éclosion des œufs et le développement larvaire chez *Anopheles gambiae* au Mali. Master International d'Entomologie Médicale et Vétérinaire. Université d'Abomey-Calavi (Cotonou). Promotion Ronald Ross. IRSP. Ouidah. Rapport N° 1.

8. Annexes

8.1 Identification des espèces et des formes moléculaires par PCR

La technique de Fanello C *et al* en 2002

- ❖ Numéroter les tubes PCR (0.2ml) correspondant au nombre de moustiques à traiter.
- ❖ Mettre dans chaque tube une patte de moustique tout en prenant soin de relever dans un registre les références (étiquette) du moustique devant le numéro qui lui correspond.
- ❖ Mettre dans chaque tube 24µl de mixture et s'assurer que la patte est complètement submergée dans la mixture.
- ❖ Utiliser un contrôle positif pour M, A, S et un contrôle négatif.
- ❖ Placer les tubes à -20° et attendre à ce que la solution se congèle.
- ❖ **Programmer la machine (programmable thermal Controller) au cycle d'amplification et attendre 94°C. Introduire les micros tubes (0.2) contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions, puis lancer la machine.**
- ❖ Attendre à ce que la machine affiche sur l'écran FOR EVER ou 4°.
- ❖ Reprogrammer la machine à 37°C et ajouter 0.65µl de l'enzyme de digestion Hha I et attendre 6 heures avant de les faire migrer à l'électrophorèse ou bien de les garder à 4°C pour une migration prochaine.

Tableau : Composition des réactifs nécessaires pour la mixture à l'identification des espèces et des formes moléculaires d'*An. gambiae s.l.*

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales
PCR buffer(tampon)	10 X	1 X
dNTPs	10 mM	0.2 mM
Mgcl2	50 mM	2.5 mM
GA	20 ng/μl	6.25 ng
AR	20 ng/μl	18.75 ng
UN	20 ng/μl	12.5 ng
Taq polymerase	5U /μl	0.9 U

Cycle d'amplification

1. 94 °C pendant 7mn
2. 94 °C pendant 30 s
3. 50 °C pendant 30 s
4. 72°C pendant 30 s
5. 72°C pendant 7mn
6. 4°C température de conservation des amplifiants

Ce cycle est répété 29 fois à partir de l'étape 2.

8.2 Séquence nucléotidique des différentes amorces pour l'identification des espèces et formes moléculaires

AG (<i>gambiae</i>)	5'-CTGGTTTGGTTCGGCACGTTT - 3'
AR (<i>arabiensis</i>)	5'-AATTGTCCTTCTCCATCCTA - 3'
UN (universel)	5' –GTGTGCCCTTCCTCGATGT- 3'

8.3 Electrophorèse de L'ADN

8.3.1 Préparation du Gel et Interprétation des bandes

Nous avons préparé un gel d'agarose à 2% sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H₂O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophenol) ont été logés par puits.

La migration a été conduite dans un bac électrophorétique à l'aide d'un générateur (Electrophoresis power supply–EPS301) sous un courant de 150 volts pendant 1 heure.

Après migration, les bandes ont été visualisées sous une lampe UV et photographiées à l'aide d'une caméra quik shooter (IBI, model QSP/Hood # 14, catalog N° 46420).

L'interprétation a consisté à identifier les espèces et leurs formes moléculaires par comparaison de leur taille en base paire (bp) à celle du marqueur moléculaire (100 bp DNA Ladder, Invitrogen Ready load).

Ainsi on a : 367 bp (*An. gambiae* forme M), 257 bp (*An. gambiae* forme S), 292 bp (*An. arabiensis*).



Figure 8: identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

Légende

- 1 :** Marqueur moléculaire 100bp
- 2 :** Contrôle positif forme M (espèce A)
- 3 :** Contrôle positif d'*An. arabiensis* (espèce B)
- 4 :** Contrôle positif forme S (espèce A)
- 5, 10 :** *An. Arabiensis* (espèce B)
- 6, 11 :** forme M (espèce A)
- 7, 8, 9, 12 :** forme S (espèce A)
- 13 :** Contrôle négatif.

Nom: Kassogué

Prénom: Yaya

Titre : Impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae*.

Année de soutenance : 2008

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 : Entomologie et parasitologie médicales

Résumé

De janvier 2007 à septembre 2007, une étude s'est déroulée au MRTC portant sur l'impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité de la forme moléculaire M d'*An.gambiae*.

Les femelles sauvages collectées à Bancoumana ont été mises en pontes individuelles. Après identification des femelles sauvages et de deux larves L1 par la PCR, seules les F1 de forme moléculaire M ont été prises en compte. Les larves ont été élevées dans des conditions similaires jusqu'au stade nymphal.

Les émergences des adultes ont été séparées pour éviter tout contact sexuel dès leur première 24H de vie aérienne.

Dans l'ensemble des expériences nous avons utilisé des adultes âgés de 2-3j. Des paramètres tels que la fécondité des femelles, l'activité sexuelle des mâles ainsi que la durée de vie des moustiques ont été évalués.

Nous avons constaté que la fécondité des femelles est tributaire de l'insémination, de la disponibilité de repas de sang mais également de la taille de la femelle. De plus la disponibilité de repas de sang en plus du jus sucré accroît de façon considérable la durée de vie des femelles.

D'autre part nous avons noté que le pouvoir d'insémination des mâles diminue avec l'âge, de plus l'activité sexuelle a un effet négatif sur la longévité des mâles mais elle est plus coûteuse pour les mâles de petites tailles.

Ces données sont indispensables pour toute stratégie de lutte antivectorielle par des moustiques génétiquement modifiés.

Mots clés: *An. gambiae* forme M, insémination, fécondité, longévité.

First name: Kassogué

Surname: Yaya

Title: The impact of insemination on the fecundity and the longevity of the molecular form M of *An. gambiae*.

Date: 2008

City: Bamako

Country: Mali

Depository: Bookcase of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology

Area of interest: Medical Entomology and Parasitology

Abstract

A study on the impact of insemination on fecundity and on the longevity of the molecular form M of *An. gambiae* was conducted in the laboratory of Malaria Research and Training Center (MRTC) from January 2007 to September 20 07.

Wild females collected in Bancoumana were put in individual laying. After identification of the wild females and two L1 larvae by the PCR, only molecular F1 of M form were taken into account.

The larvae were high under similar conditions until the pupae stage. Adults emergences were separate to ovoid any sexual contact as of their first 24H of air life.

We used 2-3 days old adults in the whole of the experiments. Parameters such as the fecundity of females, the sexual activity of males as well as the lifespan of the mosquitoes were evaluated.

We noted that female fecundity is tributary on their insemination, the availability of blood meal but also of female size.

Moreover the availability of blood meal in addition to the sugar increases in a considerable way females's lifespan.

In addition we noted that the capacity of males to inseminate females decreases with the age, moreover the sexual activity has a negative effect on longevity of males but it is more expensive for the small males.

This study is essential for any strategy to control malaria by genetically modified mosquitoes.

Key words: *An. gambiae* form M, insemination, fecundity, longevity.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté et de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

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

Je le jure !