

Ministère de l'enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

* * * * *

UNIVERSITE DE BAMAKO



Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto -Stomatologie
Année académique : 2008-2009

N°...

Thème

**Effet de l'insémination et de la taille
sur la fécondité et la longévité des
formes moléculaires M et S chez
*Anopheles gambiae s.s.***

Thèse

Présentée et soutenue publiquement le 30/06/2009
devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Par **Mme Massiriba Koné épouse de Bouba Traoré**

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

Jury

Président :

Professeur Samba Diop

Membres :

Docteur Guimogo Dolo

Docteur Djibril Sangaré

Directeur de thèse :

Professeur Sékou F Traoré

Codirectrice de thèse : Mr Adama Dao

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2008 - 2009

ADMINISTRATION

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR
 1^{er} ASSESSEUR : DRISSA DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES
 2^{ème} ASSESSEUR : SEKOU SIDIBE - MAITRE DE CONFERENCES
 SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - PROFESSEUR
 AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
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	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique

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 Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie – Réanimation (en détachement)
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale, Chef de D.E.R
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique (en détachement)
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie – Réanimation
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mme Diénéba DOUMBIA	Anesthésie/Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie (en détachement)
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MACALOU	Orthopédie/Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/Obstétrique
Mr Tiemoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Bouraïma MAIGA	Gynéco/Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie-réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA	Ophtalmologie
Mr Boubacary GUINDO	ORL
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA	Chirurgie Générale
Mr Birama TOGOLA	Chirurgie Générale
Mr Bréhima COULIBALY	Chirurgie Générale
Mr Adama Konoba KOITA	Chirurgie Générale
Mr Adégné TOGO	Chirurgie Générale
Mr Lassana KANTE	Chirurgie Générale
Mr Mamby KEITA	Chirurgie Pédiatrique
Mr Hamady TRAORE	Odonto-Stomatologie
Mme KEITA Fatoumata SYLLA	Ophtalmologie
Mr Drissa KANIKOMO	Neuro Chirurgie
Mme Kadiatou SINGARE	ORL-Rhino-Laryngologie
Mr Nouhoum DIANI	Anesthésie-Réanimation
Mr Aladji Seydou DEMBELE	Anesthésie-Réanimation
Mr Ibrahim TEGUETE	Gynécologie/Obstétrique
Mr Youssouf TRAORE	Gynécologie/Obstétrique
Mr Lamine Mamadou DIAKITE	Urologie
Mme Fadima Koréissy TALL	Anesthésie Réanimation
Mr Mohamed KEITA	Anesthésie Réanimation
Mr Broulaye Massoulé SAMAKE	Anesthésie Réanimation
Mr Yacaria COULIBALY	Chirurgie Pédiatrique
Mr Seydou TOGO	Chirurgie Thoracique et Cardio Vasculaire
Mr Tioukany THERA	Gynécologie
Mr Oumar DIALLO	Neurochirurgie
Mr Boubacar BA	Odontostomatologie
Mme Assiatou SIMAGA	Ophtalmologie
Mr Seydou BAKAYOKO	Ophtalmologie
Mr Sidi Mohamed COULIBALY	Ophtalmologie
Mr Japhet Pobanou THERA	Ophtalmologie
Mr Adama GUINDO	Ophtalmologie
Mme Fatimata KONANDJI	Ophtalmologie
Mr Hamidou Baba SACKO	ORL
Mr Siaka SOUMAORO	ORL
Mr Honoré Jean Gabriel BERTHE	Urologie
Mr Drissa TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Bakary Tientigui DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Koniba KEITA	Chirurgie Générale
Mr Sidiki KEITA	Chirurgie Générale
Mr Soumaïla KEITA	Chirurgie Générale
Mr Alhassane TRAORE	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES**1. PROFESSEURS**

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahmane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie Chef de D.E.R.
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie Médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie – Virologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie -Mycologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie-Pathologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Moustar DIALLO	Biologie Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie Mycologie
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mahamadou DIAKITE	Immunologie – Génétique
Mr Bakarou KAMATE	Anatomie Pathologie
Mr Bakary MAIGA	Immunologie
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOGO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mamadou BA	Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Mr Moussa FANE	Parasitologie Entomologie
Mr Blaise DACKOUCO	Chimie Analytique

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES**1. PROFESSEURS**

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de DER
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie – Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA
 Mr Abdel Kader TRAORE
 Mr Siaka SIDIBE
 Mr Mamadou DEMBELE
 Mr Mamady KANE
 Mr Saharé FONGORO
 Mr Bakoroba COULIBALY
 Mr Bou DIAKITE
 Mr Bougouzié SANOGO
 Mme SIDIBE Assa TRAORE
 Mr Adama D. KEITA
 Mr Sounkalo DAO
 Mme TRAORE Mariam SYLLA
 Mr Daouda K. MINTA

Pneumo-Phtisiologie (en détachement)

Médecine Interne
 Radiologie
 Médecine Interne
 Radiologie
 Néphrologie
 Psychiatrie
 Psychiatrie
 Gastro-entérologie
 Endocrinologie
 Radiologie
 Maladies Infectieuses
 Pédiatrie
 Maladies Infectieuses

3. MAITRES ASSISTANTS

Mme Habibatou DIAWARA
 Mr Kassoum SANOGO
 Mr Seydou DIAKITE
 Mr Arouna TOGORA
 Mme KAYA 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 Cheick Oumar GUINTO
 Mr Mahamadoun GUINDO
 Mr Ousmane FAYE
 Mr Yacouba TOLOBA
 Mme Fatoumata DICKO
 Mr Boubacar DIALLO
 Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA
 Mr Modibo SISSOKO
 Mr Ilo Bella DIALL
 Mr Mahamadou DIALLO
 Mr Adama Aguisa DICKO
 Mr Abdoul Aziz DIAKITE
 Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO
 Mr Salia COULIBALY
 Mr Ichaka MENTA
 Mr Souleymane COULIBALY

Dermatologie
 Cardiologie
 Cardiologie
 Psychiatrie
 Médecine Interne
 Pédiatrie
 Radiologie
 Dermatologie
 Cardiologie
 Hépato Gastro-Entérologie
 Hépato Gastro-Entérologie
 Pneumologie
 Psychologie
 Neurologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Pneumo-Phtisiologie
 Pédiatrie
 Médecine Interne
 Neurologie
 Psychiatrie
 Cardiologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Pédiatrie
 Pneumologie
 Radiologie
 Cardiologie
 Cardiologie

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
 Mr Benoît Yaranga KOUMARE
 Mr Ababacar I. MAIGA
 Mme Rokia SANOGO

Matières Médicales
 Galénique
 Chimie Analytique
 Toxicologie
 Pharmacognosie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Saïbou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Abdoulaye DJIMDE	Microbiologie-Immunologie
Mr Sékou BAH	Pharmacologie
Loséni BENGALY	Pharmacie Hospitalière

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE**1. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Moussa A. MAIGA	Santé Publique
Mr Jean TESTA	Santé Publique
Mr Mamadou Souncalo TRAORE	Santé Publique, Chef de D.E.R.
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale

2. MAITRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Hammadoun Aly SANGO	Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE	Santé Publique
Mr Ousmane LY	Santé Publique
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO	Informatique Médecine
Mme Fanta SANGHO	Santé Communautaire

3. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO	Biostatistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique (Ministre)
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souléyman GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique
Mr Cheick O. DIAWARA	Bibliographie

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Mounirou CISS	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie
Pr. Lamine GAYE	Physiologie



**DEDICACES ET
REMERCIEMENTS**

DEDICACES

Je dédie cette thèse à:

Ma sœur, **feu Awa Koné dite “Bijoux”**, petite sœur exemplaire, ta bonté, ton courage et ta soif de réussir ont été pour moi des inspirations réelles.

J’aurai admiré ta présence ici ce jour, mais hélas.....

Trouves ici l’expression de ma très grande reconnaissance.

Puisse ce travail, te faire plaisir de ta dernière demeure. Dors en paix Qu'Allah t'accorde comme tous les bons musulmans sa miséricorde, **Amen!**

Ma mère **Kinsa Sidibé**, ce jour est spécial pour moi et plus encore pour toi maman parce que plus que moi tu le mérites. Tu as été pour moi ce que veux vraiment dire une mère, rôle que tu as su si bien jouer car à aucun moment nous n'avons manqué d'amour, d'affection ou d'attention. Tu t'es battu nuit et jours pour nous offrir le meilleur. Ce travail est le fruit de tant d'années de sacrifices ; il t'est entièrement dédié.

Maman, je prie Dieu pour que tant d'autres de tes souhaits se réalisent, et plus que tout qu'il te garde longtemps afin que je puisse témoigner tout mon amour et ma gratitude. Je t'aime maman.

Mon père **Tiéfolo Koné**, mon guide et mon repère, tu as su me donner tout ce qu'un enfant pourra espérer : l'amour, l'éducation dans les principes de Dieu tu as œuvré à chaque moment de ton existence pour que nous ne manquions de rien et tu as réussi. Je demande à Allah de me donner la force de vouer mon existence à te servir. Ce travail est aussi le tien. Je t'aime papa.

Mon mari **Bouba Traoré**, tu as toujours été à mes côtés au moment où c'était nécessaire. Je prie Dieu pour que notre foyer soit couronné de bonheur et de paix.

Ma fille **Kinsa Bouba Traoré**, tu as illuminé ma vie, saches que je compte sur toi et que le bon Dieu te prête une très longue vie

A mes frères et sœurs, vous m'avez si respecté, que Dieu vous garde et vous donne satisfaction dans vos entreprises futures.

A mes cousins et cousines, je penserai toujours très fort à vous.

A mes grands parents : Feu Moussa Bala Sidibé, Feu Awa Sangaré, Bakari Kotou Kone, Massiriba Diallo vous m'avez tellement chérie, tellement chouchouté, trouvez ici un hommage bien mérité.

A mes amis (es) : Mariam Dembélé, Esther Coulibaly, Eve Sangaré, Fauti Diarra, Sourakata Diakité, Abdoul Kader Drame, Ibrim Traoré. 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.

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à la faculté en particulier :

- Mon maître et oncle N'tinèmagan Diarra
- Mr. Adenem Sagara
- Mr. Ely Sidibé
- Le Professeur Abdoulaye Diallo
- Le Professeur Sékou F. TRAORE
- Le Professeur Abdoulaye Dabo

A l'ensemble du corps professoral de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odonto-stomatologie.

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)

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, Dr Yaya Kosségué, Mr Moussa Diallo. Le temps passé à vos côtés 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. Mahamoud Maïga, Dr. Bréhima Diallo, Dr. Boubacar Guindo, Dr. Sibiri Samaké, Dr. Danaya Koné, Dr. Houseyni Dolo, Mahamadou Konaté, Dr Amadou Guindo, Dr Bréhima Diakité, Chaka Coulibaly, Dr Chaka Konaté, Dr Madjou Sacko, Dr Yaya Kassogue.

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 Doneguebougou, Soulouba et Niono

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.

Aux agents de santé du centre de santé communautaire de Kalaban Coro et La Pharmacie Penda de Sabalibougou : Dr jacob Dakono, Major Bakary Samaké, Mme Diallo Atou, Dr Kalilou Konipo

A la famille Karim Togola 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 2002-2007 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.



**HOMMAGES AUX HONORABLES
MEMBRES DU JURY**

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et Président du jury

Professeur Samba Diop

- Maître de conférences en anthropologie médicale
- Enseignant- chercheur en écologie humaine, anthropologie et éthique en santé au DER de santé publique, FMPOS
- Responsable de la section sciences humaines, sociales et éthiques du SEREFO- Centre VIH-TB à la FMPOS et NAID
- Responsable du cours « Anthropologie de la lutte contre la cécité : aspects sociaux et éthiques », (CHU-IOTA), Bamako, Mali.
- Responsable du cours « Sciences et éthique» du DEA d'anthropologie, ISFRA Université de Bamako
- Responsable du cours « Culture et éthique» du Centre universitaire d'enseignement virtuel en Afrique et a ENI, Université de Bamako
- Membre du comité d'éthique de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie.

Honorable Maître,

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

Votre disponibilité, votre simplicité, et vos encouragements nous ont permis d'élaborer ce document. Que Dieu donne au Mali encore plus de professeur de votre qualité. Accepter enfin nos sincères remerciements.

A notre maître et juge**Dr Guimogo Dolo**

PhD en parasitologie entomologie médicale, responsable de l'enseignement de la génétique à la FMPOS, Chef de l'unité biologie moléculaire du MRTC. Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre patience font de vous un maître respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

A notre maître et juge**Dr Djibril Sangaré**

PhD en parasitologie entomologie médicale, PhD en entomologie moléculaire
Chef de l'unité bio-informatique des vecteurs du MRTC.

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

DEA en entomologie et en parasitologie médicales

Chef de l'unité vecteur écologie du MRTC.

Je suis très flatté que vous ayez accepté de m'encadrer,

Votre sens du partage, votre courage, votre disponibilité constante et vos qualités sociales très remarquables nous conforte à plus d'un titre.

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

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

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Sékou F Traoré,

PhD en entomologie médicale,

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

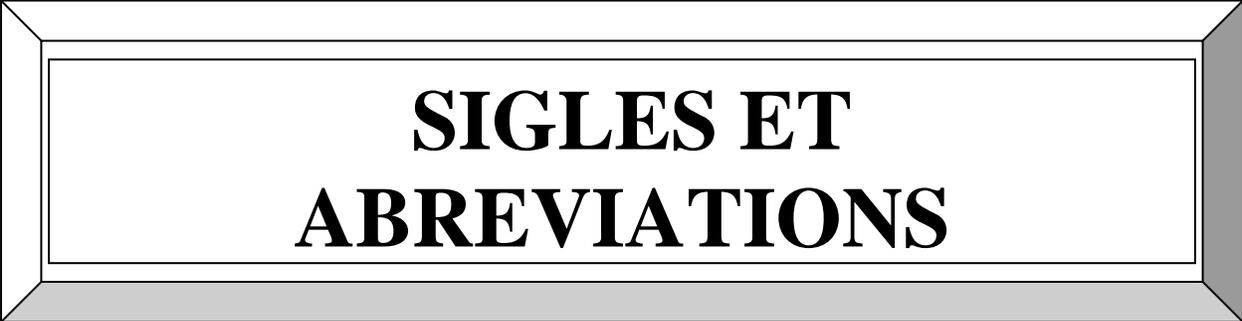
Chef de la section entomologie du MRTC

Co-directeur du MRTC

Cher maître, nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail.

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.

Nous sommes très fiers d'être parmi vos élèves. Soyez rassuré, cher maître de notre profonde gratitude et de nos sincères remerciements



SIGLES ET ABREVIATIONS

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide desoxyribonucleique

An : *Anophèles*

AR : *arabiensis*

B : forme chromosomique Bamako

Bp : Base paire

Bti : *Bacillus thurigiensis israelensis*

DNTP: Dinotrotriphosphate

F1: première génération de moustique

Fig.: figure

GIS: Système d'information géographique

GA: *gambiae*

g/ha: gramme par hectare

h: heure

J: jours

Km : kilomètre

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

L1, L2, 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 moléculaire 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 : réaction de polymérase en chaîne

S : forme moléculaire Savane

s.l: sens large

s.s: sens strict

Taq : Tacus aquaticus

T : temps

UN : Universel

UV : Ultraviolet



TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE

1. Introduction.....	1
2. Objectifs.....	3
2.1. Objectif général.....	3
2.2. Objectifs spécifiques.....	3
3. Généralités.....	4
3.1. Parasite.....	4
3.1.1. Cycle du parasite.....	4
3.2. Vecteur.....	4
3.2.1 La taxonomie et la répartition géographique.....	4
3.2.2. La biologie et l'écologie de <i>An. gambiae</i>	6
3.2.2.1. Stade preimaginaux.....	6
3.2.2.2. Imago ou adulte.....	8
3.2.3. Comportement d' <i>An. gambiae</i>	10
3.2.3.1. Accouplement et fécondation.....	10
3.2.3.2. Choix de l'hôte et alimentation.....	10
3.2.3.3. Lieu de repos.....	11
3.2.3.4. Digestion du sang et la maturation des ovaires.....	11
3.2.3.5. La longévité.....	13
3.3. Lutte contre les vecteurs du paludisme.....	14
3.3.1. Lutte anti-larvaire.....	14
❖ La lutte biologique.....	14
❖ La lutte physique.....	15

❖ La lutte chimique.....	16
3.3.2. Lutte contre les adultes	17
4. Matériel et méthodes.....	20
4.1. Lieu de capture des anophèles.....	20
4.1.1. Situation géographique les lieux de capture.....	20
4.1.2. Choix des lieux de capture.....	21
4.2. Période et type d'étude.....	22
4.3. Déroulement de l'expérience.....	22
4.3.1. Collecte des anophèles	22
4.3.2 Mise en ponte individuelle.....	22
4.3.3. Conditionnement des œufs et des femelles sauvages.....	22
4.3.4 Identification des formes moléculaires par PCR (<i>voir annexe</i>).....	22
4.3.4. Elevage des larves et collecte des nymphes	23
4.3.5. Adultes.....	23
4.4. Procédure d'expérimentation.....	24
4.4.1. Expérience d'évaluation de la fécondité.....	24
4.4.1.1. Composition et traitement des moustiques.....	24
4.4.1.2. Mesure de la fécondité.....	25
4.4.2. Expérience d'évaluation de la longévité.....	26
4.4.2.1. Composition et traitement des moustiques.....	26
4.4.2.1. Mesure de la longévité	27
4.5. Mesure de la taille des <i>Anophèles</i>	27
4.6. Saisie et analyse de données	28
5. Résultats.....	29
5.1. Expérience d'évaluation de la fécondité.....	29

5.1.1. Evaluation du taux d'insémination.....	29
5.1.2. Etude de l'effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité des formes moléculaires M et S	30
5.1.2.1. Effet de l'insémination sur la fécondité des formes moléculaires M et S.....	30
5.1.2.2. Effet de l'insémination sur la fécondité après croisement des formes moléculaires M et S.....	33
❖ Femelles M croisées aux mâles S.....	33
5.1.2.3. Effet de la taille sur la fécondité.....	35
5.2. Expérience d'évaluation de la longévité.....	37
5.2.1. Evaluation de l'effet de l'insémination et de la taille sur la longévité des femelles des formes moléculaires M et S	37
5.2.1.1. Evaluation du taux d'insémination.....	37
5.2.1.2. Effet de l'insémination sur la longévité des femelles de formes moléculaires M et S.....	38
5.2.1.3. Effet de la taille sur la longévité des femelles.....	39
5.2.2. Effet de l'activité sexuelle et de la taille sur la longévité des mâles de formes moléculaires M et S	41
5.2.2.1. Effet de l'activité sexuelle sur la longévité des mâles	41
5.2.2.2. Effet de la taille sur la longévité des mâles.....	42
6. Commentaires et discussion.....	44
6.1. Evaluation de l'effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité.....	44
6.1.1. Taux d'insémination.....	44
6.1.2. Effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité des formes moléculaires M et S.....	44

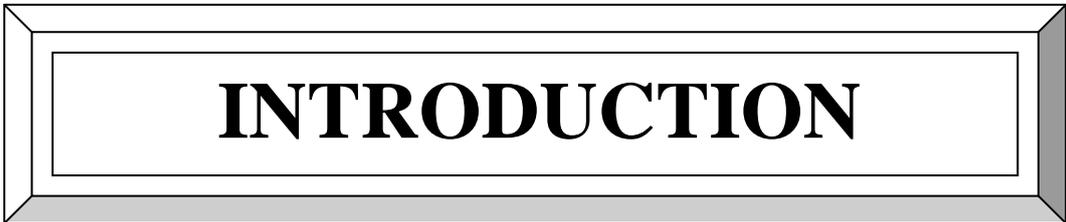
❖ Effet de l'insémination sur la fécondité des formes moléculaires.....	44
❖ Effet de la taille sur la fécondité	45
6.2. Evaluation de la longévité.....	46
6.2.1. Effet de l'insémination et de la taille sur la longévité.....	46
6.2.2. L'effet de l'activité sexuelle et de la taille sur la longévité des males.....	47
7. Conclusion et recommandations.....	48
8. Bibliographie.....	50
9. Annexes	

LA LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Répartition des moustiques du groupe des non vierges.....	25
Tableau II : Répartition des moustiques par cages.....	26
Tableau III: Taux d'insémination des femelles des formes moléculaires M et S.....	29
Tableau IV: Comparaison de la moyenne d'œufs développés par les femelles M et S inséminées ou non inséminées par les mâles... ..	32
Tableau V: Comparaison de la moyenne d'œufs développés des femelles M inséminées ou non inséminées par les mâles S.....	34
Tableau VI: Taille moyenne des ailes des femelles M et S ayant développées des œufs	35
Tableau VII: Taux d'insémination des femelles de formes moléculaires M et S d' <i>An. gambiae</i>	37
Tableau VIII: Durée moyenne de vie des femelles de formes moléculaires M et S selon leur statut (inséminées et non inséminées).....	38
Tableau IX: Taille moyenne des ailes des femelles M et S.....	39
Tableau X: Durée moyenne de vie des mâles de forme moléculaire M et S en fonction de leur statut (vierges et non vierges).....	41
Tableau XII : Taille moyenne des ailes des mâles des formes moléculaires M et S.....	42

LA LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma du Cycle biologique d'un <i>Anophelinae</i> (Brunhes et <i>al.</i> , 1998).....	10
Figure 2: Images des différents états de réplétion.....	12
Figure 3 : Image d'une spermathèque (Tripet, 2001).....	13
Figure 4: Carte du Mali montrant les sites de capture des moustiques.....	20
Figure 5: Pourcentage de femelles M inséminées ou non inséminées par les mâles M ayant développé des œufs.....	30
Figure 6: Pourcentage de femelles S inséminées ou non inséminées par les mâles M ayant développé des œufs.....	31
Figure 7: Pourcentage de femelles M inséminées ou non inséminées par les mâles S ayant développé des œufs.....	33
Figure 8: Etude de la corrélation entre la taille et la fécondité des moustiques femelles des formes moléculaires M et S d' <i>An. gambiae</i>	36
Figure 9: Etude de la corrélation entre la taille et la longévité des moustiques femelles des formes moléculaires M et S d' <i>An. gambiae</i>	40
Figure 10: Etude de la corrélation entre la taille et la longévité des moustiques mâles des formes moléculaires M et S d' <i>An. gambiae</i>	43



INTRODUCTION

1. Introduction

Le paludisme est une érythrocytopathie due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmise par la piqûre infectante d'un moustique, l'anophèle femelle. Il constitue un problème majeur de santé publique frappant surtout les pays intertropicaux à travers le monde. Environ 300 à 500 millions de cas sont déclarés chaque année avec 1,5 à 2,7 millions de décès, dont 80% en Afrique au sud du Sahara. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes constituent les couches les plus vulnérables (OMS 2005).

Au Mali le paludisme est la première cause de mortalité et de morbidité avec des taux respectifs de 26,13% et 27,16% (PNLP-Mali, 2004).

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* (*An. gambiae*) dénommées Bamako, Savane et Mopti (Touré *et al*, 1989). Les formes chromosomiques Bamako et Savane s'observent essentiellement en saison de pluies alors qu'*An.arabiensis* et la forme Mopti se rencontrent aussi bien en saison de pluies qu'en saison sèche. Cependant on observe des variations significatives dans la distribution géographique et saisonnière de leurs fréquences relatives (Maïga H.M, 1985; Traoré S.F ,1989; Touré *et al*, 1994 et 1998).

Della Torre, en 2001 a reparti ces trois formes chromosomiques en deux formes moléculaires M (Mopti) et S (Bamako et Savane) par l'amplification de l'ADN ribosomal. L'équivalence entre les formes chromosomiques et les formes moléculaires n'est vérifiée qu'au Mali et au Burkina-Faso (Della Torre, 2001).

Les moustiques se reproduisent par la voie sexuée et ont une activité crépusculaire ou nocturne. Les mâles forment des essaims vers lesquels les femelles sont attirées par des signaux jusque là inconnus (Takken et Knols,

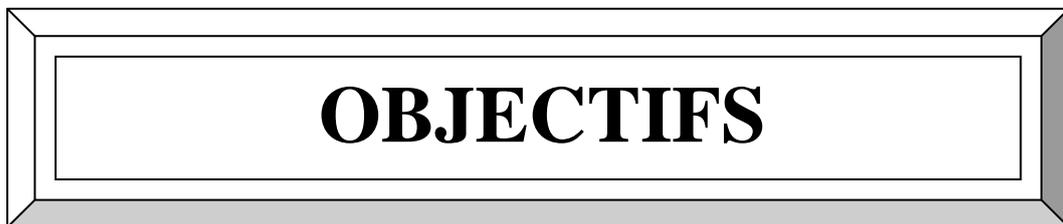
1999). La femelle qui pénètre dans l'essaim est aussitôt saisie par un mâle et le couple sort de l'essaim. C'est ainsi que les femelles sont inséminées au cours de l'accouplement. Les femelles ainsi inséminées vont à la recherche d'un repas de sang indispensable à la maturation des œufs (Nayar et Sauerman, 1975 ; Foster, 1995). 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). Kassogué, 2008 a montré un effet positif de l'insémination sur la production d'œuf et la longévité des femelles de la forme moléculaire M d'*An. gambiae*.

Il apparaît ainsi important d'approfondir chez *An. gambiae* l'étude de la biologie de la reproduction des formes moléculaires M et S en vue d'élaborer des méthodes de lutte sélective adaptées aux conditions locales. Car force est de constater que peu de programmes de lutte anti-vectorielle sont à ce jour couronnés de succès. Cela est dû à la fois à la résistance d'*An. gambiae* à une gamme de plus en plus large d'insecticides et à la complexité génétique de ce vecteur.

Parmi les nouvelles méthodes de lutte sélectives anti-vectorielle l'on peut citer :

- la création de mâles stériles et leur introduction dans la population sauvage (Tabachnick, 2003)
- l'introduction des moustiques femelles transgéniques hostiles au développement du parasite dans la population anophélienne sauvage (Ito, 2002; Moreira et *al.*, 2002.)

Compte tenu de ce qui précède et dans la suite logique de nos études antérieures nous nous proposons d'étudier la relation entre l'activité sexuelle, la fécondité et la longévité des deux formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*.



OBJECTIFS

2. Les objectifs

2.1 Objectif général

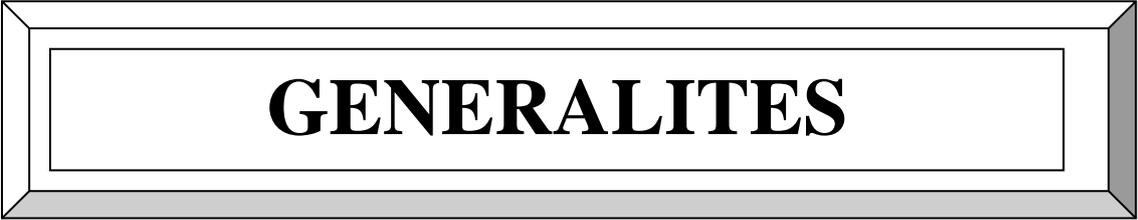
Evaluer l'effet de l'insémination et de la taille des moustiques sur la fécondité et la longévité des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*.

2.2 Objectifs spécifiques

* Déterminer l'effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité des femelles des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae* ;

* Déterminer l'effet de l'insémination et de la taille sur la longévité des femelles des formes moléculaires M et S ;

* Déterminer l'effet de l'activité sexuelle et de la taille sur la longévité des mâles des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*



GENERALITES

3. Généralité

3.1. Le parasite

Les parasites du genre *Plasmodium*, responsables du paludisme, sont des protozoaires de la classe des sporozoaires; appartenant au phylum des Apicomplexa. Le *Plasmodium*, se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies, d'où son nom d'hématozoaire (Singh *et al*, 2004). Le cycle du *Plasmodium* exige deux hôtes pour accomplir son développement : un hôte définitif invertébré (le moustique) et un hôte intermédiaire vertébré (l'homme).

3.1.1. Cycle du parasite

Le cycle du *Plasmodium* se fait en deux phases et implique deux hôtes : le moustique et l'homme.

- Une phase sexuée se déroulant chez le moustique qui est l'hôte définitif (cycle sporogonique)
- Deuxième phase asexuée abritée par l'homme (hôte intermédiaire) comporte deux cycles; il s'agit du cycle érythrocytaire (dans les cellules sanguines) et du cycle exo-érythrocytaire (dans les cellules hépatiques).

3.2. Le vecteur

3.2.1. La taxonomie et la répartition géographique

Les anophèles sont des moustiques du règne animal, du sous règne des Métazoaires, de l'embranchement des Trachéates, de la classe des Insectes, de la sous classe des Ptérygotes, de l'ordre des Diptères, du sous ordre des Nématocères, de la famille des Culicinae, de la sous famille des Anophelinae.

Ils appartiennent au genre *Anopheles* qui est responsable de la transmission du paludisme chez l'homme. Plus de 450 espèces d'Anophèles sont décrites jusqu'à nos jours. Mais seulement environ 80 d'entre elles sont des espèces vectrices responsables de la transmission du plasmodium à l'homme.

En Afrique, cinq espèces sont considérées comme vecteurs majeurs du paludisme. Il s'agit de : *An. gambiae s.s* qui s'observe essentiellement dans les zones humides du sud et au nord, dans les zones d'inondation du fleuve Niger, *An. arabiensis*, *An. funestus*, *An. nili* et *An. moucheti*. D'autres tels que *An. melas*, *An. merus*, *An. paludis*, *An. pharoensis*, *An. hancocki* sont des vecteurs d'importance locale, dits "secondaires" (pour l'Afrique centrale).

Chacune de ces espèces a des exigences écologiques particulières et exploite une variété de collection d'eau. *An. gambiae* se développe plutôt dans de petites collections d'eaux claires, ensoleillées et sans végétation. *An. arabiensis* peuple les zones sèches (Coetze et al., 2000). *An. funestus* peuple les marais à végétation dressée. *A. nili* se développe sur les bords des rivières à courant rapide et *An. moucheti* se développe dans les fleuves à courant lent, dans le bloc forestier d'Afrique centrale (Antonio-Nkondjio et al., 2002). Certaines espèces telles que *An. melas*, *An. merus* se développent dans les eaux saumâtres des zones côtières, tolérant une concentration en sel comprise entre 5 à 37 g /l.

Aujourd'hui, les flux de gènes entre deux formes moléculaires d'*An. gambiae s.s.* se restreignent montrant ainsi un processus de spéciation en court. Il existe deux formes moléculaires nommées M et S. Des différences d'ordre moléculaire entre les deux formes ont été démontrées. Par exemple, deux loci microsatellites proches du centromère du chromosome X présentent des différences significatives entre les formes moléculaires M et S au Mali. En plus, l'analyse de la séquence de l'intron I (en amont de la mutation *kdr*) a révélé que les formes en Afrique de l'ouest diffèrent constamment à ce niveau d'un nucléotide (Della Torre et al., 2002).

Par suite, des barrières reproductives se mettent en place entre les deux formes. Elles semblent être pour le moment d'ordre comportemental et géographique. La

forme S est localisée en Afrique et se reproduit dans des gîtes dépendantes des pluies tandis que la forme M se trouve uniquement en Afrique de l'ouest et se reproduit préférentiellement dans les sources d'eau anthropiques comme, par exemple, les canaux d'irrigation. Par conséquent, la forme M tire avantage des installations humaines et allonge ainsi son cycle de reproduction. Cette forme M a donc colonisé une niche écologique relativement récente, créée par des phénomènes d'anthropisation du milieu, lui permettant ainsi d'éviter la compétition intra spécifique. Dans ce cas, l'Homme est directement responsable de la spécialisation et, indirectement, de l'extension de la période de transmission du paludisme au-delà de la saison des pluies (Budiansky, 2002 ; Della Torre *et al.*, 2002).

3.2.2. La biologie et l'écologie d'*An. gambiae* (Figure 1)

Au cours de leur développement, toutes les espèces de moustiques sont caractérisées par la succession de deux phases: La première est aquatique et couvre la vie pré-imaginale, c'est-à-dire l'œuf, les stades larvaires et la nymphe. La seconde est aérienne et concerne l'adulte ou imago.

3.2.2.1. Stade pré imaginaux

*** L'œuf**

Les anophèles femelles pondent sur l'eau des œufs fécondés. Ces œufs mesurent moins d'1 mm de longueur. Ils sont pondus isolément, munis de deux flotteurs latéraux remplis d'air leur permettant de rester en surface durant l'embryogénèse. La forme de l'œuf de l'anophèle évoque celle d'un cylindre incurvé aux extrémités et est protégé par plusieurs enveloppes particulières qui, contrairement à d'autres espèces de moustiques, ne lui permettent toutefois pas de résister à la sécheresse. Les œufs éclosent au bout de 24 à 48h selon la température (Holstein, 1949).

*** La larve**

Après l'éclosion, la larve subit trois mues successives qui la conduisent du stade I au stade IV. Elle se compose de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Chez *An. gambiae*, elle mesure 1 mm de long au premier stade et 5 mm au quatrième.

-La tête

Elle comprend notamment les yeux, les antennes et les pièces buccales qui entourent la bouche ventrale. Un cou membraneux sépare la tête du thorax. Pour se nourrir, la larve effectue une rotation de la tête de 180°, si bien que la bouche se retrouve juste sous la surface de l'eau. Elle filtre et ingère les particules alimentaires amenées vers la bouche par le courant de surface engendré par le battement des brosses buccales.

- Le thorax

Il est massif, grossièrement sphérique et légèrement aplati dorso-ventralement formé de trois segments non individualisés.

- L'abdomen

Il est cylindrique et se compose de neuf segments dont les deux derniers sont modifiés. Le huitième segment porte dorsalement deux orifices respiratoires (les stigmates) s'ouvrant directement au niveau d'une plaque spiraculaire chez les Anophelinae. Les stigmates respiratoires sont ouverts en surface pour autoriser le renouvellement d'air du système trachéen et fermés par des valves lors de la plongée. La respiration est aérienne. Le neuvième segment abdominal porte l'anus.

Les sept premiers portent notamment des plaques dorsales sclérifiées et des soies palmées caractéristiques des anophèles. Ces soies contribuent au maintien

de la larve juste sur la surface de l'eau, dans la position typique des anophèles, parallèle à la surface de l'eau, face dorsale vers le haut.

* **La nymphe**

A la fin du quatrième stade larvaire, la cuticule se fend dorsalement et libère une nymphe, bien différente de la larve. La nymphe est une pupe mobile se présentant sous forme de virgule et ne se nourrit pas. Elle est composée de deux parties : le céphalothorax et l'abdomen

- Le céphalothorax est globuleux et porte deux trompettes respiratoires, qui correspondent aux stigmates antérieurs du thorax de l'adulte. Ces trompettes à extrémités hydrophobes traversent la surface de l'eau et assurent la respiration aérienne de la nymphe.

- L'abdomen comprend huit segments bien visibles, dont le huitième porte une paire de palettes natatoires. La nymphe effectue des mouvements saccadés suite à une contraction brutale de l'abdomen.

3.2.2.2. Imago ou adulte

De la nymphe, émerge un adulte mâle ou femelle. L'émergence dure quelques minutes et représente une phase délicate dans la vie de l'insecte en raison d'une forte mortalité par noyade. Il comprend trois parties: la tête, le thorax, et l'abdomen.

- **La tête:** Elle porte deux gros yeux composés, une paire d'antennes de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle. Une paire de palpes fixés sous les antennes sont composés de 5 parties chez l'anophèle. Les palpes sont recouverts d'écailles qui peuvent être de différentes couleurs et utilisées dans l'identification d'espèce. Un proboscis se détache de la partie ventrale de la tête, dirigé vers l'avant.

-Le thorax: Il est formé de trois segments (prothorax, mésothorax, métathorax) portant chacun une paire de pattes. Le premier est réduit. Le second est très développé et renferme de puissants muscles alaires d'où s'insère une paire d'ailes. Et sur le troisième est placé une paire d'haltères ou balanciers qui sont l'homologue d'une paire d'ailes postérieures atrophiées jouant un rôle dans l'équilibration du vol. Les ailes présentent de nombreuses écailles claires et sombres; leur arrangement sur le rebord costal est caractéristique des anophèles.

-L'abdomen : Il est constitué 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 qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de la prise d'un repas de sang et lors de l'élaboration de la ponte dans les ovaires. Les trois derniers segments portent l'anوس et les appendices génitaux ou génitalia. 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.

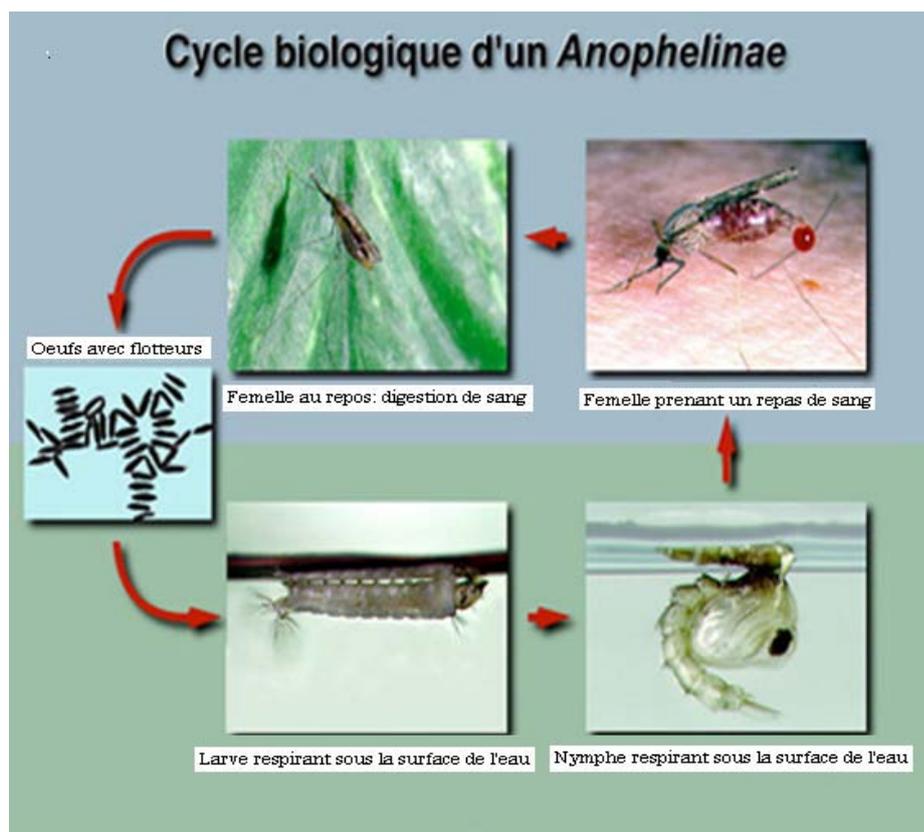


Figure 1 : Schéma du Cycle biologique d'un *Anophelinae* (Brunhes et *al.*, 1998)

3.2.3. Comportement d'*An. gambiae*

3.2.3.1. Accouplement et fécondation

La femelle ne copule généralement qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à cette occasion assez de sperme pour féconder tous les lots d'œufs successifs.

Normalement, elle ne prend son premier repas sanguin qu'après la copulation, mais parfois le premier repas sanguin peut être pris par une femelle encore vierge. Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces), tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul repas de sang.

3.2.3.2. Choix de l'hôte et alimentation

Les habitudes de nourriture et de repos des moustiques sont d'une grande importance dans les programmes de contrôle et pour cette raison, elles doivent être bien comprises. La plupart des espèces d'anophèles piquent la nuit.

Certaines piquent juste après le coucher du soleil, d'autres piquent plus tard, aux environs de minuit ou même aux petites heures matinales. Certaines espèces entrent dans les maisons pour piquer (**endophages**), d'autres préfèrent piquer à l'extérieur (**exophages**).

Les préférences trophiques varient suivant les différentes espèces de moustiques. Certains préfèrent prendre du sang chez l'homme plutôt que chez les animaux, ils sont appelés **anthropophiles**, tandis que d'autres, qui préfèrent le sang des animaux sont appelées **zoophiles**. Bien entendu, ceux qui préfèrent l'homme sont les plus dangereux, car ils sont susceptibles de transmettre la maladie d'homme à homme.

3.2.3.3. Lieu de repos

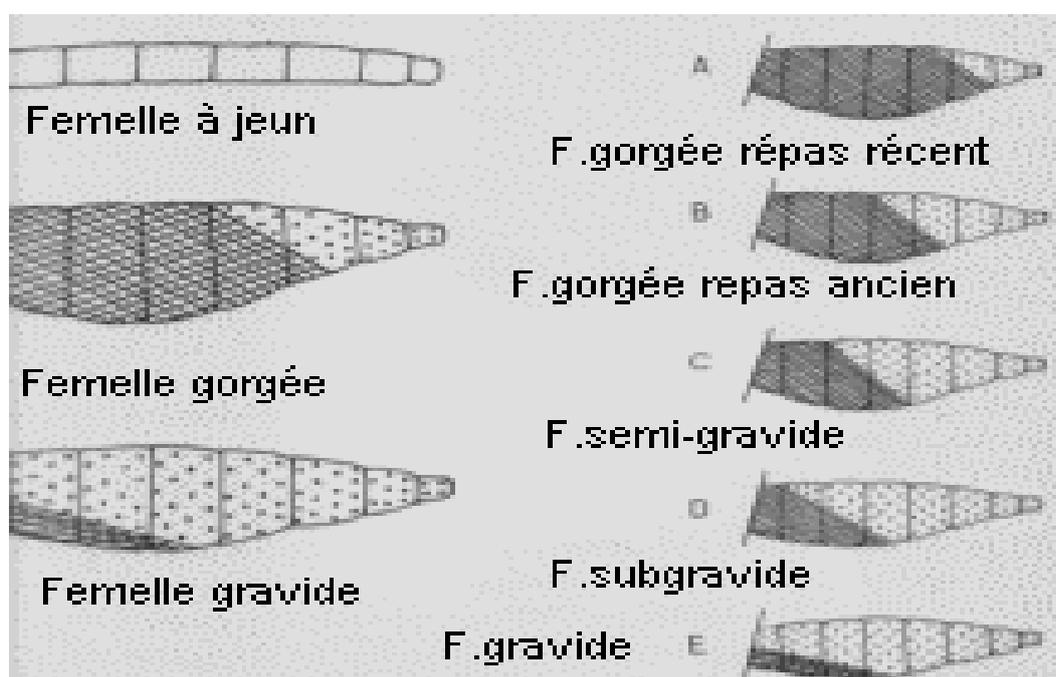
Après que le moustique ait pris son repas de sang, il se repose pendant une courte période. Les moustiques qui sont entrés pour piquer se reposent habituellement sur un mur, sous le mobilier ou sur des vêtements pendus dans la maison. Ils sont dits **endophiles**. Ceux qui piquent à l'extérieur se reposent habituellement sur des plantes, dans des trous, sur des arbres, sur le sol ou d'autres endroits frais et sombres sont dits **exophiles**.

3.2.3.4 Digestion du sang et maturation des ovaires

Au cours du repas de sang, l'anophèle 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 nourrie. 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.2*), ces femelles sont ainsi classées en :

- **Femelles à jeun ou non gorgées** : femelles tenerales 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-gravides** : abdomen à moitié noirâtre contenant du sang en digestion, avec la partie apicale blanche du fait du développement des ovaires.
- **Femelles gravides** : femelles ayant développé des œufs conservés encore dans l'abdomen.



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

Figure 2 : 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).

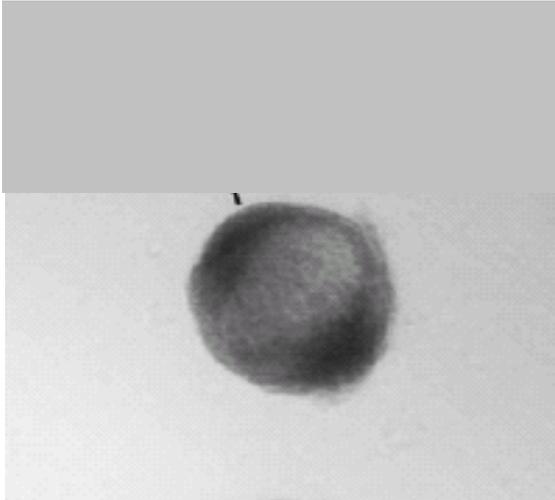


Figure (3) : Image d'une spermathèque (Tripet, 2001)

Après la ponte, l'anophèle part à la recherche d'un nouveau repas sanguin.

Le cycle biologique qui débute par la piqure 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).

3.2.3.5 La longévité

La durée de vie d'un *Anophèle* adulte se situe autour d'une semaine à dix jours pour les mâles et de deux à quatre semaines pour les femelles en région tropicale. Leur longévité peut être augmentée chez les femelles en zone tempérée, avec le phénomène de diapause hivernale (Mouchet, 2004)

3.3. Lutte contre les vecteurs du paludisme

Cette lutte repose sur la rupture ou la réduction du contact homme/vecteur. Elle s'adresse à la fois aux larves ainsi qu'aux adultes.

3.3.1. Lutte anti-larvaire

La lutte anti-larvaire s'effectue au niveau des gîtes. Elle consiste à la destruction des larves avant qu'elles ne deviennent adultes. Cette lutte peut être: biologique, physique ou Chimique.

❖ La lutte biologique

. Poissons larvivores

L'exemple le plus connu est celui des poissons larvivores, qui se nourrissent de larves de moustiques. Parmi les principales espèces à avoir été introduites avec succès dans différents pays, il y a le « top minnow » ou poisson à moustiques (*Gambusia affinis*) et le « guppy » (*Poecilia reticulata*). *Gambusia* est plus efficace dans les eaux claires, tandis que *Poecilia* est utilisé avec succès dans les eaux polluées de matières organiques. *Poecilia* supporte des températures plus élevées que *Gambusia* et convient donc mieux dans les rizières des pays chauds. Cependant, à l'inverse de *Gambusia*, il ne peut survivre à des températures inférieures à 10°C (OMS, 2003).

. Bactéries Larvicides

Elles produisent des toxines qui tuent les larves après ingestion. Les bactéries *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) et *Bacillus sphaericus* sont des bactéries qui produisent des toxines très actives contre les larves par ingestion. A dose normale, elles sont sans danger pour l'homme, les autres insectes, les poissons et les animaux supérieurs. Elles peuvent être utilisées dans les eaux d'irrigation des cultures vivrières et dans les eaux de boisson.

Le Bti a le désavantage de n'être actif que par ingestion, puis sa densité l'entraîne au fond alors que les larves d'anophèle se nourrissent en surface. Il se détruit très rapidement dans le milieu naturel et doit donc être réappliquée périodiquement (OMS, 2003; Fillinger et *al.*, 2003)

❖ **La lutte Physique**

C'est une modification intentionnelle du biotope, qui vise à faire disparaître ou à réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent (PNEP Tunisie ; www.malaria.tun). On distingue:

. **Le drainage**, qui consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu récepteur naturel (tel qu'un cours d'eau, un terrain perméable etc...). Il a l'avantage d'évacuer rapidement les eaux et d'entraîner œufs et larves vers des milieux défavorables à leur développement où leur destruction rapide est assurée. Un récepteur naturel situé loin du gîte est souhaitable par contre, une petite distance entre récepteur naturel et gîte constitue un facteur qui limite l'efficacité de cette méthode.

. **La mise en boîte**, qui 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 milieu récepteur naturel. Cette mise en tranchée nécessite la connaissance du volume d'eau dans le gîte.

. **Le captage des résurgences**, ces résurgences proviennent de nappes artésiennes ou nappes captives.

Pour éliminer ces résurgences on peut utiliser soit :

* Le pompage à l'aide d'une pompe à moteur ;

* L'aménagement en puits ;

* Le drainage vers un milieu récepteur naturel.

Ces solutions sont fonction du débit de la source et de la permanence de celle-ci.

. **Le comblement**, Certains gîtes peuvent être éliminés à l'aide de matériaux (pierres, débris de construction). Cette méthode est surtout utilisée pour des gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne. Ces matériaux devront souvent être transportés sur de longues distances, et nécessitent d'être compactés, ce qui élève le coût de cette technique.

A part la solution de comblement, toutes les autres nécessitent souvent un travail d'entretien (désherbage, curage, mise à bord franc, etc...).

D'une façon générale, les travaux de génie sanitaire peuvent être améliorés par un reboisement au niveau des surfaces assainies.

. **Le boisement**, il est bénéfique et rentable de prévoir la plantation d'arbres, comme l'eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau de faible débit mais d'écoulement continu. (<http://lozere.org/perso/malaria/LUTTE-ANTILARVAIRE.htm>).

❖ La lutte chimique

Il s'agit d'épandre, uniformément et périodiquement, une certaine quantité de pesticide dans les gîtes larvaires et d'exposer ainsi les larves à des substances naturelles ou de synthèse qui provoquent la mort des arthropodes par empoisonnement. Les organophosphorés sont les plus utilisés. Le Temephos qui a une très faible toxicité pour les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde (OMS, 2003). Il peut être mis dans l'eau d'irrigation et a aussi été utilisé pour traiter les eaux de boisson. Il est, cependant, toxique pour les poissons ; Le Fenthion est aussi

communément utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments.

3.3.2. Lutte contre les adultes

- Pulvérisations intradomiciliares

Les pulvérisations intradomiciliares 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 distribution de moustiquaires imprégnées 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
- réduction 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

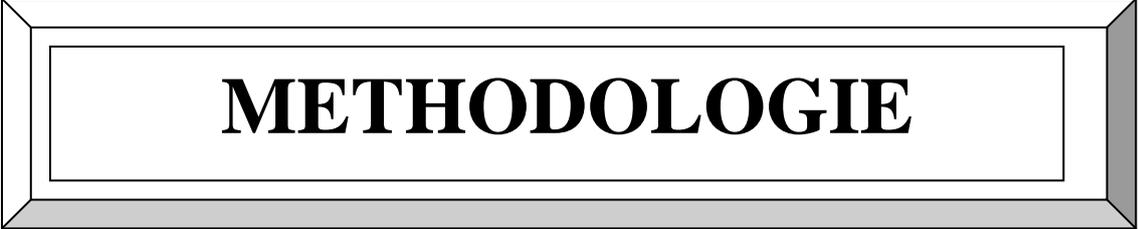
L'utilisation de certains vêtements couvrant la plus grande partie du corps fournit un certain niveau de protection personnelle contre les piqûres de moustiques (OMS, 2003).

-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 qu'ils transmettent habituellement (Tabachnick, 2003).

Les manipulations intéressent également les plantes comme les algues qui se reproduisent dans les gîtes larvaires. Ces algues génétiquement modifiées par intégration de gènes de toxines bactériennes agissent sur les larves de moustiques.



METHODOLOGIE

4. Matériel et Méthodes

4.1. Lieu de capture des anophèles

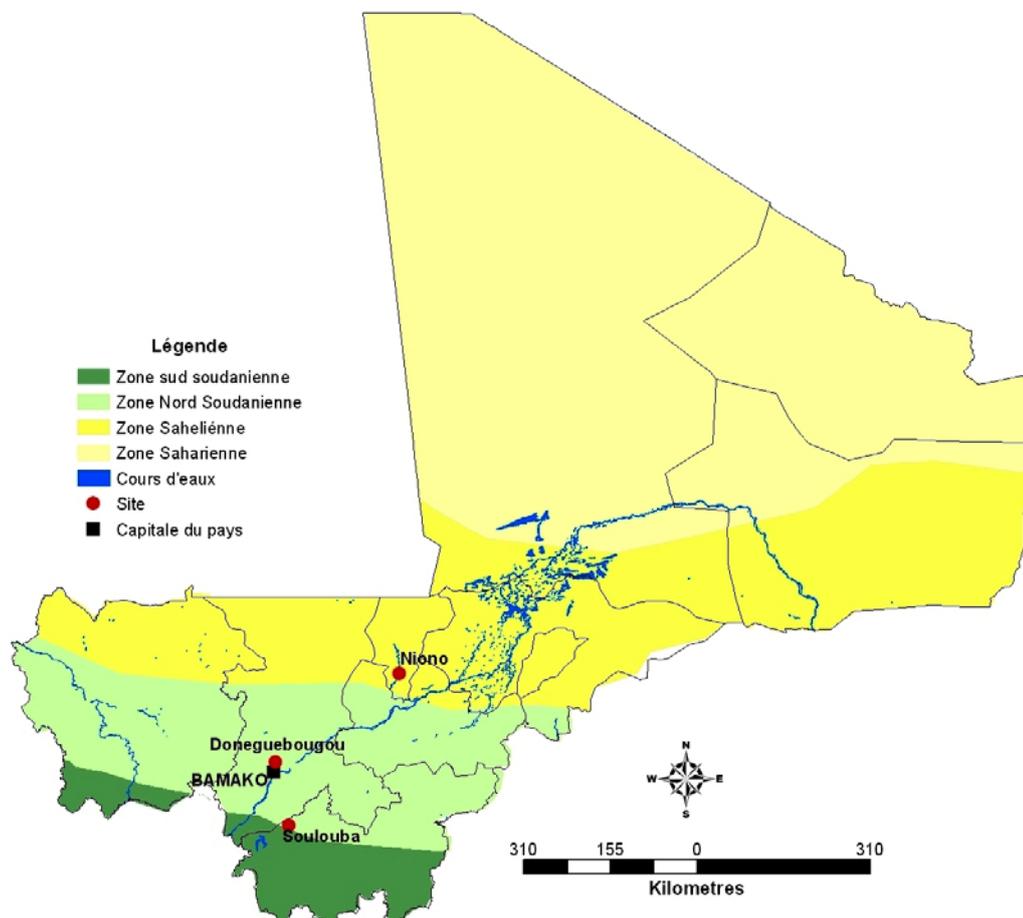


Figure 4: Carte du Mali montrant les sites de capture des moustiques
Source : Unité GIS du MRTC/FMPOS-MALI

4.1.1. Situation géographique des lieux de capture

- ❖ **Donéguébougou** : est un village situé dans la préfecture de **Kati**. Ses coordonnées géographiques sont: **7°59'5"** longitude Ouest et **12°48'38"** latitude Nord. La population de Donéguébougou compte environ 1345 habitants dont 60% d'enfants de moins de 15 ans selon le recensement de 2006.

- ❖ **Soulouba** : est une localité située au 11°46 latitude Nord et 7°46 longitude ouest. Soulouba relève de la commune de Kéléya dans la préfecture de Bougouni (Région de Sikasso) à 107 km de Bamako. Soulouba compte 1000 habitants environ.

- ❖ **Niono** : La zone Office du Niger est située au 14,25° latitude Nord et 5,98° longitude ouest. Elle n'est devenue une zone de production agricole que par la mise en place des infrastructures hydrauliques et des aménagements consécutifs à la création d'une autorité de gestion appelée *Office du Niger*.

4.1.2. Choix des lieux de capture

La sélection des différents sites a été faite en fonction de la fréquence des différentes formes moléculaires :

- Donéguébougou ; une sympatrie des formes moléculaires M et S est observée (Sangare. D, 2000 ; Adamou, 2003)
- Niono : la forme M est abondante à plus de 95% (Dolo et *al* 2004)
- Soulouba : la forme S est plus abondante (Tripet et *al* 2007)

Ces sites étaient facilement accessibles.

4.2. Période et type d'étude

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

4.3. Déroulement de l'expérience

4.3.1. Collecte des anophèles

Les femelles gorgées, semi gravides et gravides d'*An. gambiae s.l* ont été capturées dans les habitations humaines à : Donéguébougou, Soulouba et Niono. La capture avait lieu de 08 h - 12 h à l'aide d'aspirateur à bouche de type Coluzzi et Petrarca (1973), puis transportés à l'insectarium du MRTC. La température de l'insectarium était maintenue à 27°C, l'humidité relative entre 70% - 85% et la photo périodicité était de 12 heures. Les moustiques étaient gardés pendant 2 jours dans une grande cage avant d'être mis en ponte individuelle.

4.3.2. Mise en ponte individuelle

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

4.3.3. Conditionnement des œufs et des femelles sauvages

Après 24 à 48 heures, les femelles ayant pondu étaient récupérées, tuées et conservées dans des tubes eppendorf de 0.5 ml contenant de l'éthanol 80% avec des numéros d'identification. Les œufs de chaque ponte étaient mis en eau dans un plateau en plastique (L= 30 cm, l= 25 cm, hauteur= 6 cm) contenant 500 ml d'eau distillée. Des flotteurs ont été utilisés pour éviter la dispersion des œufs et leur accolement aux bordures du plateau. Chaque

plateau portait le numéro du tube ayant servi à la ponte du moustique femelle sauvage.

4.3.4. Identification des formes moléculaires par PCR (Voir annexe)

Une patte de chaque moustique servait à l'identification de l'espèce et /ou des formes moléculaires par la technique PCR (Fanello et *al*, 2002). La technique de Fanello et *al*, (2002) qui permet en même temps d'identifier l'espèce et /ou la forme moléculaire d'*An .gambiae s.s.* était utilisée.

4.3.4. Elevage des larves et collecte des nymphes

Toutes les larves de formes moléculaires M et S issues des pontes dont le résultat d'identification de la femelle sauvage a été confirmé, ont été élevées dans les plateaux. Chaque plateau contenait environ le même nombre de larves, nourrit et recevant la même quantité de nourriture chaque jour. Ces larves étaient élevées dans les mêmes conditions jusqu'au stade nymphal. Les nymphes étaient quotidiennement collectées dans un pot par plateau. Chaque pot était placé dans une cage pour émergence.

4.3.5. Adultes

Les moustiques mâles et femelles issus de chaque émergence étaient séparés avant les premières 24 h de leur vie aérienne pour éviter tout accouplement. Ces moustiques étaient gardés dans des cages moyennes par forme moléculaire 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 de l'expérience.

4.4. Procédure d'expérimentation

4.4.1. Expérience d'évaluation de la fécondité :

4.4.1.1. Composition des groupes et traitement des moustiques

Pour comprendre l'effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*, nous avons réparti les moustiques de la façon suivante :

***Le groupe des vierges :**

- Les mâles : séparés des femelles avant les premières 24h de leur vie aérienne (vierges), étaient repartis en une cage de forme moléculaire M et une autre de forme moléculaire S en raison de 220 individus par cage.

-Les femelles : dont les virginités ont été confirmées en disséquant 10 à 20 moustiques de chacune des cages de forme moléculaire M et S. Ils étaient repartis en 220 individus par cage et par forme moléculaire.

***Le groupe des non vierges :**

Des femelles ayant passé deux à trois nuits successives avec les mâles constituaient le groupe des non vierges. Ce groupe était reparti en 2 sous groupes:

-Le sous groupe 1 : était composé de 2 cages dont une première contenant les femelles de forme moléculaire M accouplées avec les mâles de forme moléculaire M et une seconde les femelles de forme moléculaire S accouplées avec les mâles de forme moléculaire S. Ces cages contenaient chacune 220 individus. (Voir tableau 1)

-Le sous groupe 2 : était composé de 2 cages dont une première contenait des femelles de forme moléculaire M croisées avec les mâles de forme moléculaire S et une seconde les femelles de forme moléculaire S croisées

avec les mâles de forme moléculaire M. Ces cages contenaient chacune 220 individus. (Voir tableau I)

Tableau I : Répartition des moustiques du groupe des non vierges

Groupe des non vierges	Cages	Composition	Localité
Sous groupe 1	1	110 femelles M + 110 mâles M	Donéguebougou
	2	110 femelles S + 110 mâles S	
Sous groupe 2	1	110 femelles M + 110 mâles S	
	2	110 femelles S + 110 mâles M	

Cette composition et traitement des moustiques étaient répétés 5 fois.

Pour tous les groupes, mâles et femelles recevaient du jus sucré (5%). Pour l'accomplissement de leur premier cycle gonotrophique, les femelles ont reçu en plus du jus sucré un repas de sang pendant deux jours consécutifs.

4.4.1.2. Mesure de la fécondité

20 à 25 femelles étaient disséquées par cage sous une loupe binoculaire pour observer les œufs développés après deux repas de sang et cela trois jours après la dernière prise de sang (premier cycle gonotrophique). Une seconde dissection était faite pour dénombrer les œufs développés. Ceci constituait le critère d'évaluation de la fécondité. Ensuite suivait la mesure des ailes (voire **4.5**) pour la détermination de l'impact de la taille sur la fécondité.

4.4.2. Expérience d'évaluation de la longévité

4.4.2.1. Composition des groupes et traitement des moustiques

Le but de cette seconde expérience était d'estimer la longévité et de comprendre l'effet de l'insémination sur cette longévité chez les formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*.

Les moustiques étaient repartis entre 6 cages avec en moyenne 100 moustiques par cage (voir tableau II).

Tableau II : Répartition des moustiques par cages

Numéro des Cages	Composition	Forme moléculaire	Localité
1	100 Mâles	S	Soulouba
2	100 Femelles	S	
3	50 Mâles + 50 femelles	S	
4	100 Mâles	M	Niono
5	100 Femelles	M	
6	50 mâles + 50 femelles	M	

Les cages contenant uniquement les mâles ou les femelles étaient utilisées pour l'évaluation de l'effet de la taille sur la longévité. Les cages mixtes étaient utilisées pour la détermination de l'effet de l'activité sexuelle sur la longévité des mâles d'une part et d'autre part pour la détermination de l'effet de l'insémination sur la longévité des femelles. Ces moustiques étaient nourris avec du jus sucré à 5 %.

Ce schéma expérimental de traitement des moustiques était répété 3 fois de suite.

4.4.2.2. Mesure de la longévité

La longévité de chaque moustique était mesurée en comptant le nombre de jours qui sépare la date d'émergence de l'imago et celle de sa mort.

Les moustiques morts ont été collectés entre 8 h - 9 h du matin tous les jours du début à la fin de l'expérience. Les mâles ont été conservés individuellement dans des tubes eppendoff de 0,5 ml contenant de l'éthanol 80% alors que les femelles étaient disséquées pour évaluer leur état d'insémination avant leur conservation.

La dissection consistait à enlever la spermathèque à l'aide des pinces et des aiguilles sous une loupe binoculaire et de procéder à sa lecture au microscope avec le grossissement 40. L'insémination était mesurée par la présence de spermatozoïdes dans la spermathèque.

La corrélation entre la taille et la longévité a été obtenue en mesurant la taille de l'aile (Voire **4.5**) des mâles et des femelles.

4.5. Mesure de la taille des *Anophèles*

Les tailles des moustiques étaient mesurées à l'aide d'une loupe binoculaire au grossissement trois (3).

Cette mesure se faisait 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 de vernis incolore. La mesure concernait de 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)

4.6. Saisie et analyse des données

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

Les tests suivants ont été réalisés :

- χ^2 de Pearson (pour la comparaison des moyennes)
- Test de Fisher (pour les taux d'insémination).
- Test ANOVA (pour les moyennes).



RESULTATS

5. Résultats

5.1. Expérience d'évaluation de la fécondité

5.1.1 Evaluation du taux d'insémination

Tableau III: Taux d'insémination des femelles des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*

Les croisements	N	Nbre positif	% inséminées
Femelles (M*M)	452	203	44,91
Femelles (M*S)	472	124	26,27
Femelles (S*M)	345	136	39,42
Moyenne/Total	1269	463	36,49

*Femelles (M*M)= Femelles M accouplées avec les mâles M ; Femelle (M*S)= Femelles M croisées avec les mâles S ; Femelles (S*M)= Femelles S croisées avec les mâles M ; Nbre=nombre ; N=effectif*

Le taux d'insémination était plus élevé avec ($X^2= 36,380$; $p<0,001$) chez le groupe de femelles M accouplées avec les mâles M (44,91% ; N=452) suivis de celui des femelles S croisées avec les mâles M (39,42% , N=345), et celui des femelles M croisées avec les mâles S ont présenté le plus faible taux avec 26,27% (N=472).

5.1.2. Etude de l'effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité des formes moléculaires M et S

5.1.2.1. Effet de l'insémination sur la fécondité des formes moléculaires M et S

A cause des difficultés d'insémination de la forme moléculaire S nous n'avons pas pu déterminer l'effet de l'insémination des femelles S accouplées avec les mâles S. Cependant l'effet a pu être déterminé avec les femelles S croisées avec les mâles M.

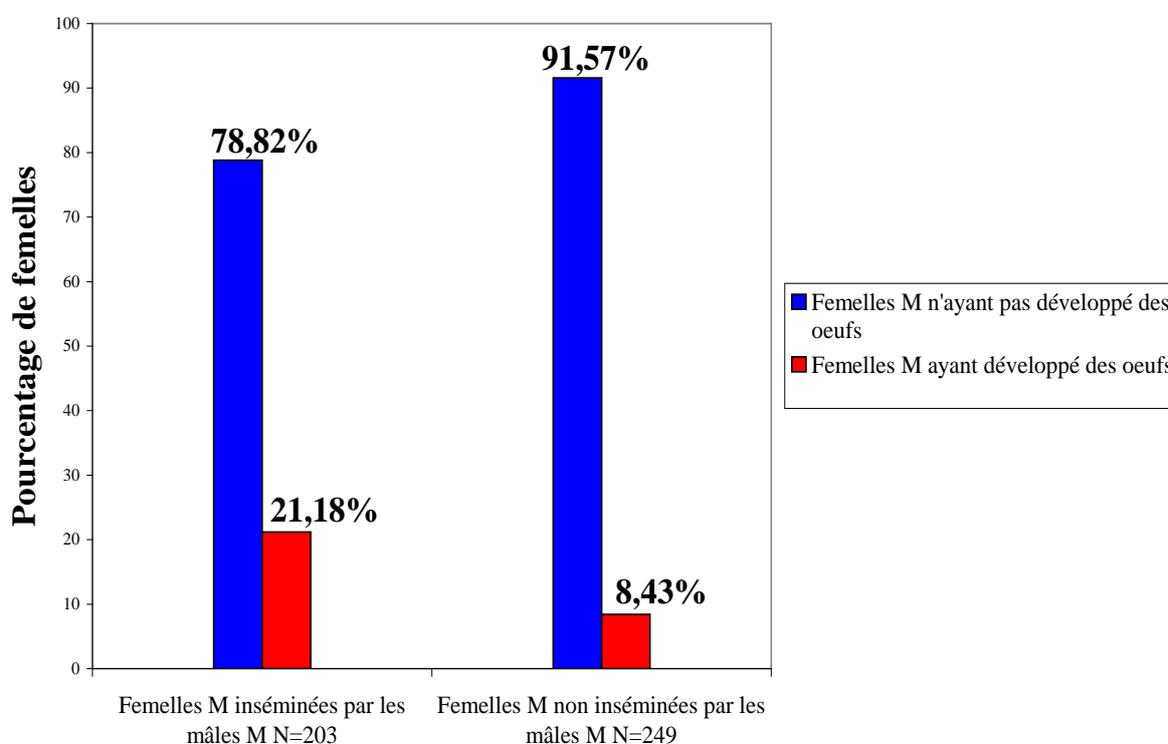


Figure 5: Pourcentage des femelles M inséminées et non inséminées par les mâles M ayant développé des œufs.

Le pourcentage de femelles M inséminées par les mâles M et ayant développé des œufs (21,18% ; N=203) était largement supérieur à celui des femelles M non inséminées par les mâles M (8,43% ; N= 249) et la différence était statistiquement significative ($X^2= 14,953$; $p<0,001$).

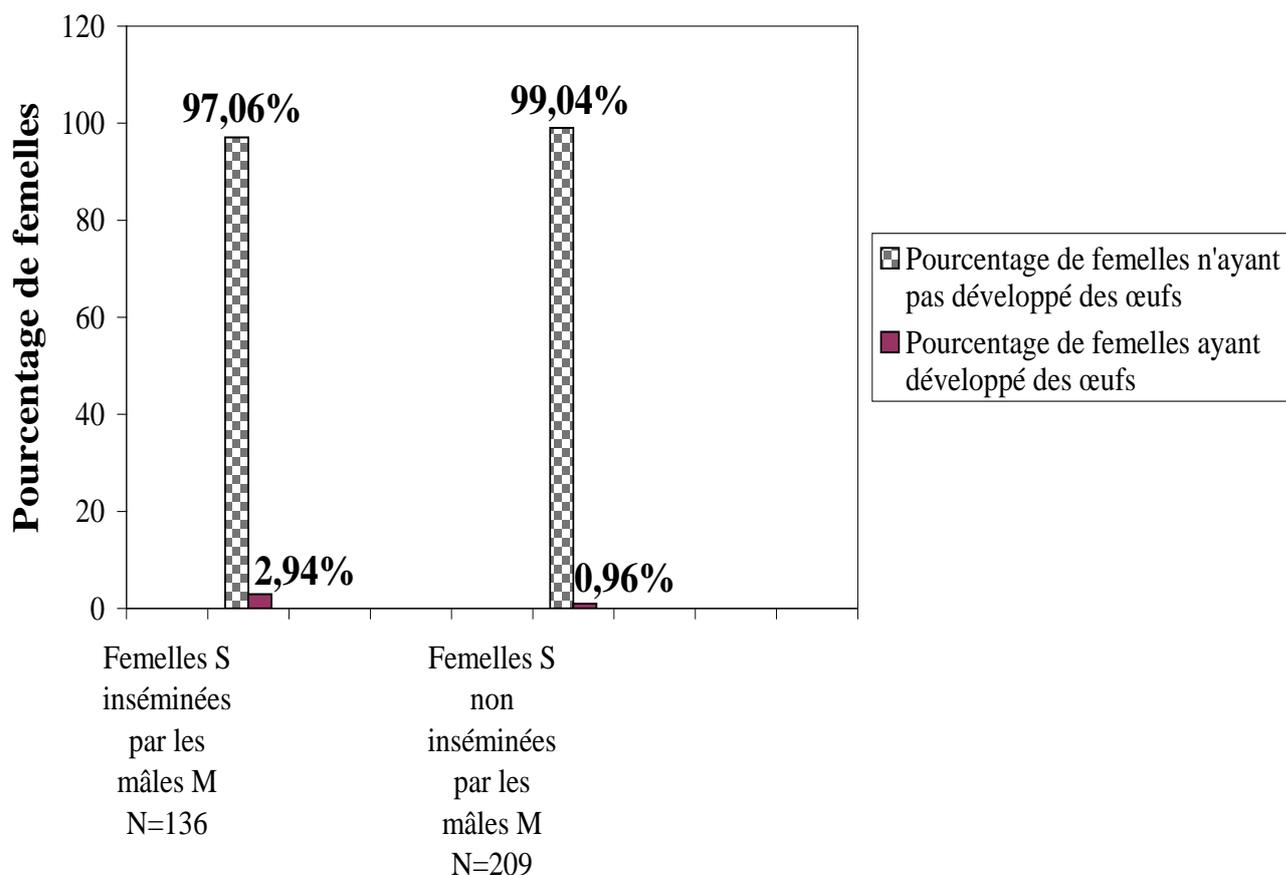


Figure 6: Pourcentage de femelles S inséminées et non inséminées par les mâles M ayant développé des œufs.

La figure 6 montre que le pourcentage de femelles S inséminées par les mâles M et ayant développé des œufs (2,94% ; N=136) était supérieur mais non significative ($X^2=1,898$; $p=0,16$) à celui des femelles S non inséminées par les mâles M (0,96% ; N= 209).

Tableau IV: Comparaison de la moyenne d'œufs développés par les femelles M et S inséminées et non inséminées par les mâles M.

Statut des femelles	N	Moy d'œufs	Min	Max	Variance
Femelles M inséminées	43	74,46	16	133	1086,68
Femelles M non inséminées	20	66,95	14	145	947,25
Moyenne/Total	63	72,08	14	145	987,14
Femelles S inséminées	4	40,75	7	59	532,25
Femelles S non inséminées	2	40,5	32	49	144,5
Moyenne/Total	6	40,67	7	59	348,267

Moy: moyenne, Min: minimum, Max: maximum, N=effectif

- La moyenne d'œufs développés par les femelles M quelque soit son statut était de 72,08 œufs (N=63). Il n'y avait pas de différence statistiquement significative ($p=0,38$; $F=0,778$ $dl=1$) entre le nombre moyen d'œufs développés par les femelles M inséminées (74,46 œufs, N=43) et celui des femelles M non inséminées 66,95 œufs (N=20).

- La moyenne d'œufs développés par les femelles S quelque soit son statut était de 40,67 œufs (N=6). Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre le nombre moyen d'œufs développés par les femelles S inséminées (40,75 œufs, N=4) et celui des femelles S non inséminées 40,50 œufs (N=2) avec $p=0,98$; $F=0,0002$; $dl=1$

5.1.2.2. Effet de l'insémination sur la fécondité après croisement des formes moléculaire M et S

Les croisements étaient portés sur les mâles S avec les femelles M et les mâles M avec les femelles S

❖ Femelles M croisées aux mâles S

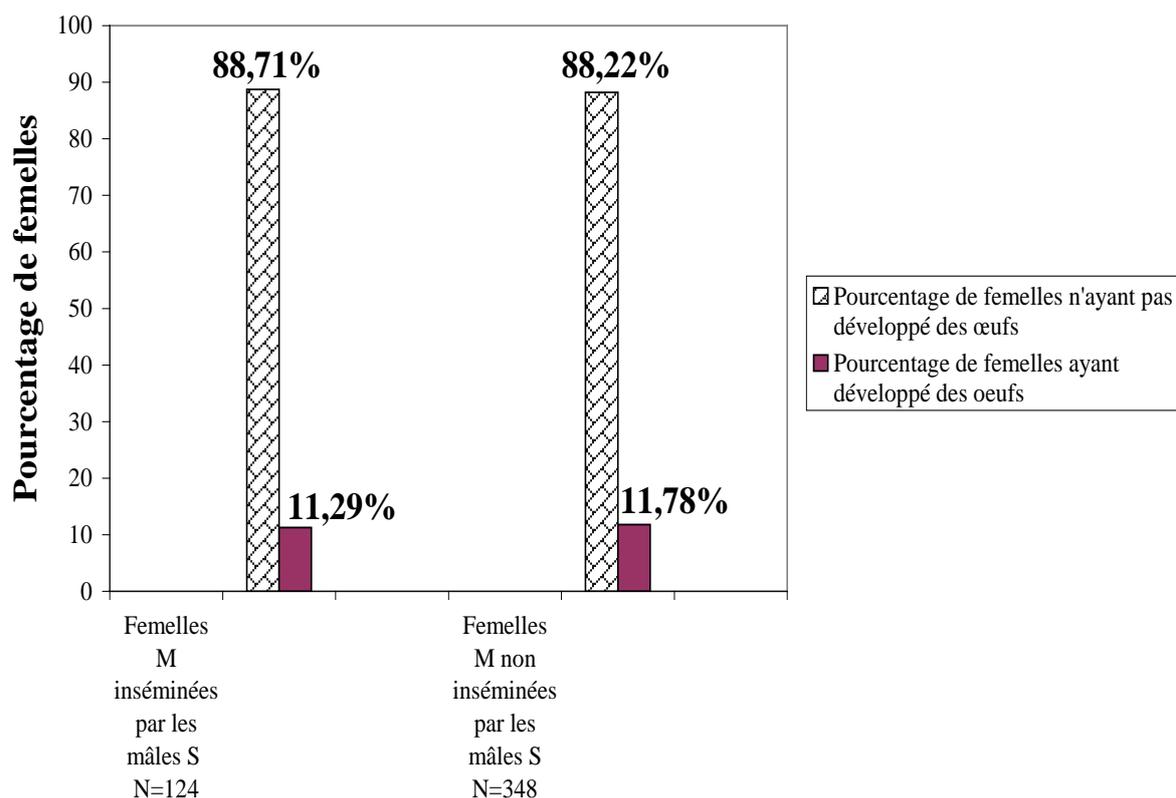


Figure 7: Pourcentage de femelles M inséminées et non inséminées par les mâles S ayant développé des œufs.

La figure 7 montre que le pourcentage de femelles M inséminées par les mâles S et ayant développé des œufs (11,29% ; N=124) était inférieur à celui des femelles M non inséminées par les mâles S (11,78% ; N= 348) et la différence n'était pas statistiquement significatives avec $X^2=0,0214$; $p=0,88$)

Tableau V: Comparaison de la moyenne d'œufs développés des femelles M inséminées ou non inséminées par les mâles S

Statut des femelles	N	Moy d'œufs	Min	Max	Variance
Femelles M inséminées	14	57,29	19	110	912,989
Femelles M non inséminées	41	60,80	6	126	723,311
Moyenne/Total	55	59,91	6	126	757,973

La moyenne d'œufs développés par les femelles quelque soit son statut était de 59,91 œufs (N=55). Il n'y avait pas de différence statistiquement significative ($p=0,68$; $F=0,168$; $dl=1$) entre le nombre moyen d'œuf développé par les femelles inséminées (57,29 œufs, N=14) et celui des femelles non inséminées 60,80 œufs (N=41).

5.1.2.3. Effet de la taille sur la fécondité

Tableau VI: Taille moyenne des ailes des femelles M et S ayant développées des œufs des formes moléculaires M et S

Forme moléculaire	Taille Moy (mm)	N	Min	Max	Variance
M	8,87	55	7,8	9,7	0,143
S	8,6	3	8,3	8,9	0,090
Total / Moyenne	8,86	58	7,8	9,7	0,143

Moy: moyenne, Min: minimum, Max: maximum, N=effectif, mm=millimètre

La taille moyenne des femelles ayant développées des œufs quelque soit leur forme moléculaire était 8,86. La différence n'était pas statistiquement significative ($p=0,22$; $F=1,532$; $dl=1$) entre les petites tailles et les grandes tailles des deux formes moléculaires M et S.

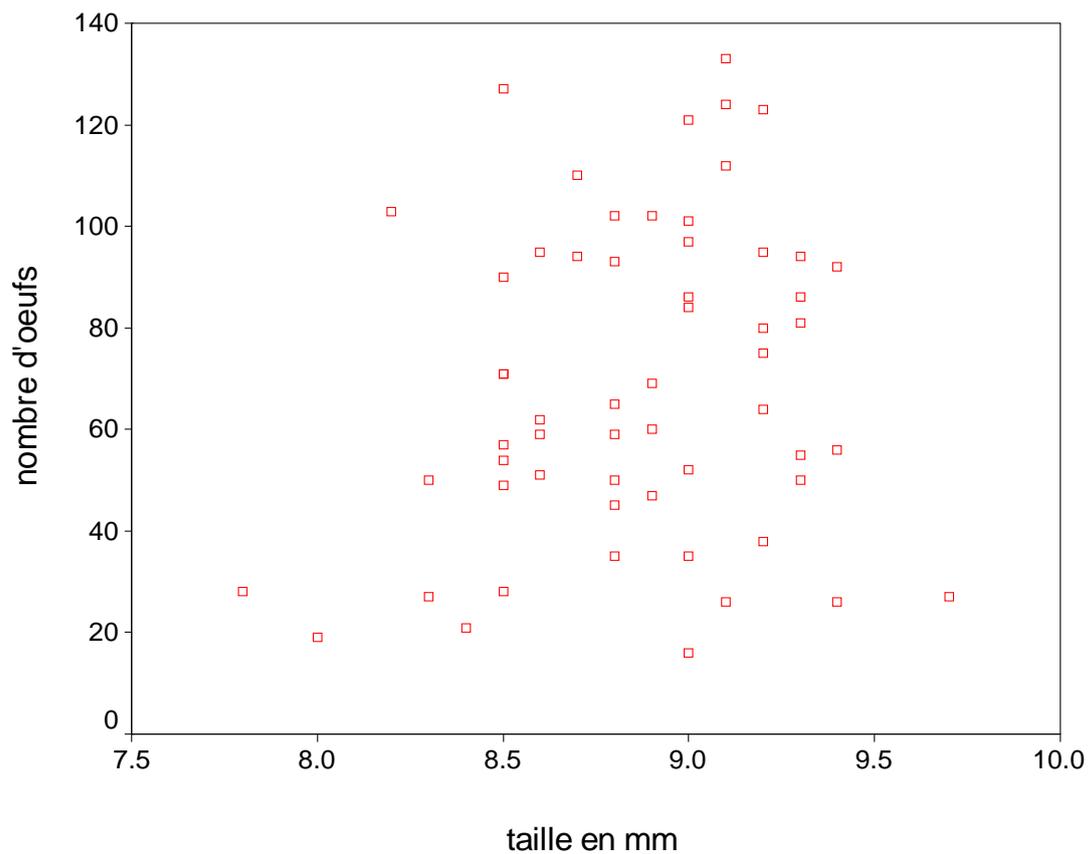


Figure 8: Etude de la corrélation entre la taille et la fécondité des moustiques femelles après croisement des formes moléculaires S et M d'*An. gambiae*.

L'analyse de la figure 8 montre que la taille influence positivement la fécondité ; les femelles de petites tailles pondent moins d'œufs que les femelles de grandes tailles ($R= 0,188$).

5.2. Expérience d'évaluation de la longévité

5.2.1 Evaluation de l'effet de l'insémination et de la taille sur la longévité des femelles des formes moléculaires M et S

5.2.1.1. Evaluation du taux d'insémination

Tableau VII: Taux d'insémination des femelles de formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*

Forme moléculaire	Positif	Négatif	Total	Taux d'insémination (%)
M	94	43	137	68,6
S	34	84	118	28,8

Ce tableau montre que les femelles de la forme moléculaire M étaient beaucoup plus inséminées que celles de la forme moléculaire S (68,6% contre 28,8%) avec $p < 0,001$

5.2.1.2. Effet de l'insémination sur la longévité des femelles des formes moléculaires M et S

Tableau VIII: Durée moyenne de vie des femelles de formes moléculaires M et S selon leur statut (inséminées et non inséminées)

Statut des femelles	N	Durée moy	Min	Max	Variance
Femelles M inséminées	94	22,24	9	53	70,659
Femelles M non inséminées	43	18,76	3	45	83,563
Moyenne/Total	137	21,15	3	53	76,748
Femelles S inséminées	34	19,47	7	29	37,771
Femelles S non inséminées	84	18,99	3	53	91,819
Moyenne/Total	118	19,13	3	53	75,838

Min: minimum, Max: maximum, N=effectif ; Moy: moyenne

L'analyse du tableau VIII montre que :

- La durée de vie des femelles M inséminées ou non inséminées était de 21,15 jours N=137. Mais les femelles M inséminées avait une durée de vie (22,24 jours N=94) significativement plus élevée ($p= 0,03$; $F= 4,777$ et $dl=1$) que celles des non inséminées (18,76 jours ; N=43).

- La durée de vie moyenne de femelles S inséminées et non inséminées était de 19,13 jours. Elle était de 19,47 jours pour les femelles inséminées et de 18,99 jours pour les femelles non inséminées et la différence n'était pas statistiquement significative ($p= 0,78$; $F= 0,0473$ et $dl=1$).

5.2.1.3. Effet de la taille sur la longévité des femelles

Tableau IX: Taille moyenne des ailes des femelles M et S

Forme moléculaire	Taille Moy (mm)	N	Min	Max	Variance
M	9,17	526	7,7	10,2	0,196
S	8,85	608	7,3	10,5	0,365
Total/Moyenne	8,99	1134	7,3	10,5	0,312

Moy: moyenne, Min: minimum, Max: maximum, N=effectif, mm=millimètre

La taille moyenne des femelles quelque soit leur forme moléculaire était de 8,99 mm. La différence statistique était significative ($p < 0,001$; $F = 99,530$ $dl = 1$) entre les petites tailles et les grandes tailles des deux formes moléculaires M et S.

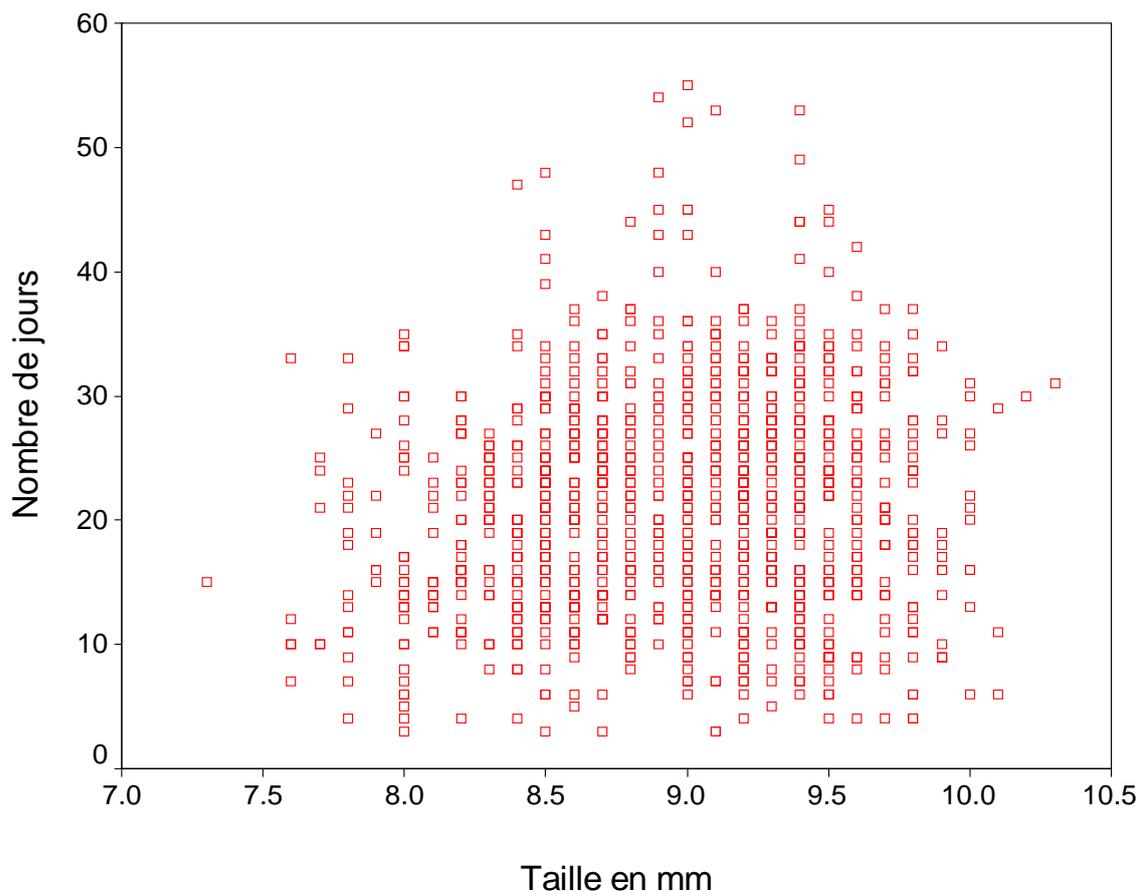


Figure 9: Etude de la corrélation entre la taille et la longévité des moustiques femelles des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*.

Il ressort de cette figure que les femelles de petites tailles vivent moins longtemps que les grandes tailles ($R= 0,105$). La majorité des femelles qui ont vécu plus longtemps sont de tailles moyennes.

5.2.2 L'effet de l'activité sexuelle et la taille sur la longévité des mâles

5.2.2.1. Effet de l'activité sexuelle sur la longévité des mâles

Tableau X: Durée moyenne de vie des mâles des formes moléculaires M et S en fonction de leur statut (Vierges et non vierges)

Statut des mâles	N	Durée moy	Min	Max	Variance
Mâles M non Vierges	139	17,88	4	40	56,350
Mâles M vierges	303	26,06	3	55	99,587
Moyenne/Total	439	23,53	3	55	100,372
Mâles S non Vierges	124	14,75	3	40	42,936
Mâles S vierges	194	17,47	3	45	64,095
Moyenne/Total	318	16,41	3	45	57,454

Moy: moyenne, Min: minimum, Max: maximum, N=effectif

- Les mâles M vierges ont vécu plus longtemps que les non vierges (23,53 jours) et la différence statistique était significative ($p < 0,001$; $F = 72,831$ et $dl = 1$).

- La durée de vie moyenne des mâles S non vierges était de 14,75 jours ; (N=124), alors que celle des mâles S vierges était de 17,47 jours ; (N=194). La différence a varié de manière significative avec $p < 0,001$; $F = 10,050$ et $dl = 1$.

5.2.2.2. Effet de la taille sur la longévité des mâles

Tableau XI : Taille moyenne des ailes des mâles M et S

Forme moléculaire	Taille Moy (mm)	N	Min	Max	Variance
M	8,59	957	7,3	9,9	0,149
S	8,42	612	6,8	9,8	0,284
Total/Moyenne	8,52	1569	6,8	9,9	0,208

Moy: moyenne, Min: minimum, Max: maximum, N=effectif, mm= millimètre

La taille moyenne des mâles quelque soit leur forme moléculaire était 8,52. La différence statistique était significative ($p < 0,001$; $F = 54,756$ $dl = 1$) entre les petites tailles et les grandes tailles des deux formes moléculaires M et S.

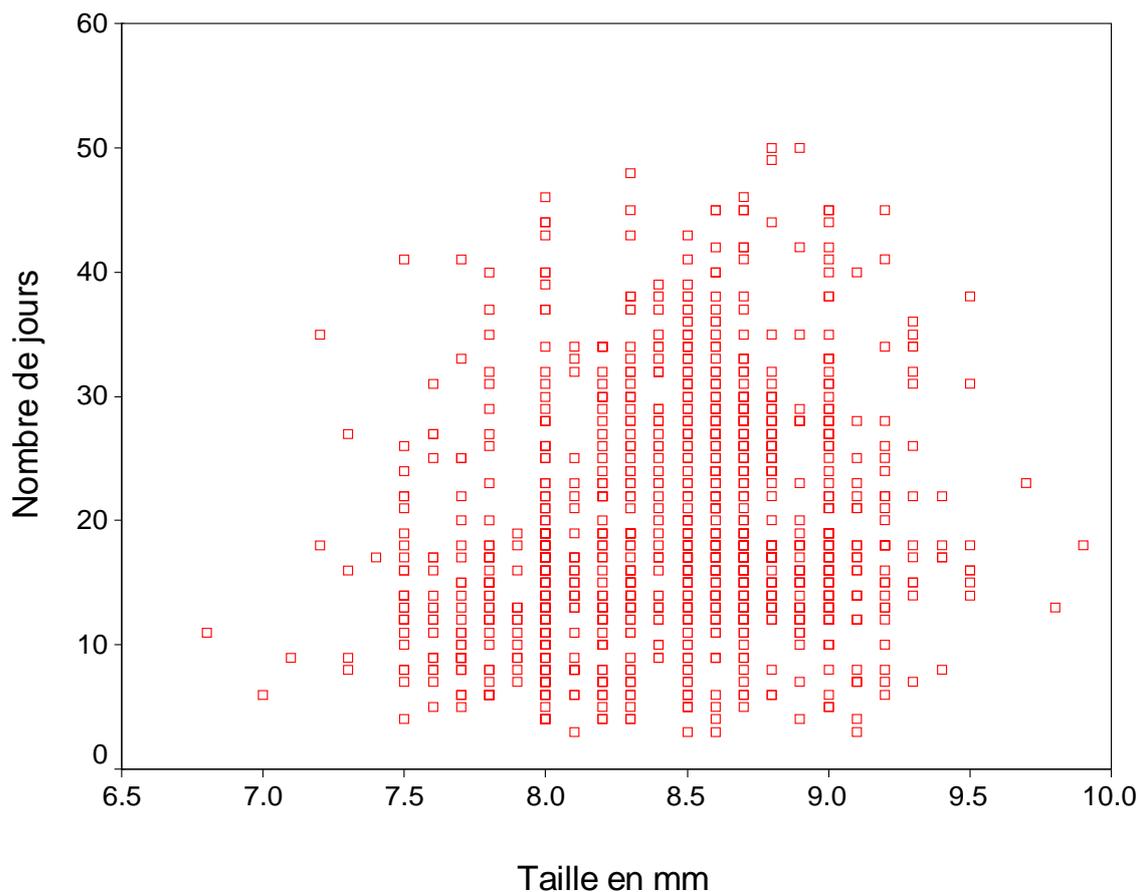


Figure 10: Etude de la corrélation entre la taille et la longévité des moustiques mâles des formes moléculaires S et M d'*An. gambiae*

Cette figure nous montre que la durée de vie des mâles quelque soit leur forme moléculaire est en fonction de leur taille. Plus le moustique est grand, plus sa longévité augmente. ($R=0,188$).



**COMMENTAIRES ET
DISCUSSION**

6. Commentaires et discussion

6.1. Evaluation de l'effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité

6.1.1. Taux d'insémination :

Le taux d'insémination était très élevé chez les femelles M croisées avec les mâles M (44,91 ; N=452).

Les femelles S croisées avec les mâles M ont aussi donné un taux d'insémination élevé (N=345 ; 39,42%). Les mâles S ont aussi faiblement inséminé les femelles M avec (N=472 ; 26,27%). Ce faible taux d'insémination de la forme moléculaire S expliquerait leur mauvaise adaptation en condition de laboratoire.

6.1.2. Effet de l'insémination et de la taille sur la fécondité des formes moléculaires M et S

❖ Effet de l'insémination sur la fécondité des formes moléculaire M et S

Sur un total de 249 femelles M non inséminées par les mâles M, 8,43% des femelles M seulement ont développé des œufs. Alors que, chez les femelles M inséminées par les mâles M, la proportion de femelles ayant développé des œufs (21,18% N=203) dépasse celle des femelles M non inséminées par les mâles M (8,43 ; N=249 ; *Figure 5*)

De même, le nombre moyen d'œufs développés par les femelles M inséminées par les mâles M (74,46 œufs ; N=43) a dépassé celui des femelles M vierges (66,95 œufs N=20 ; *Tableau IV*). Ce qui suggérait que l'insémination a un effet positif sur la production d'œufs chez la forme moléculaire M d'*An. gambiae*. Ceci confirme les résultats obtenus par Kassogué (2008) qui montre que l'insémination augmentait le nombre d'œufs chez les femelles de forme

moléculaire M. En 2004, Klowden *et al*, avait trouvé les mêmes résultats d'œufs chez *An. gambiae*.

Ce phénomène n'a pas été observé chez les femelles de la forme moléculaire S car le nombre moyen d'œufs (40,75 œufs N=4) développés par les femelles S inséminées par les mâles M n'était pas significativement différent de celui développé par les femelles S non inséminées (40,50 œufs N=2). Le pourcentage de femelles ayant développé des œufs avec ce croisement était très faible (2,94%, N=136) pour les femelles inséminées et (0,96%, N=209) pour les non inséminées.

Compte tenu du faible taux d'insémination des femelles S (expliquant le faible échantillonnage), du fait que nous n'avons pas pu avoir de résultats (corrélation insémination et fécondité) avec les femelles S croisées avec les mâles S, ces observations doivent être prises en réserve.

L'effet de l'insémination sur la fécondité n'a pas aussi été observé chez les femelles M croisées avec les mâles S car le nombre moyen d'œufs développés par les femelles inséminées (57,29 œufs N=14) ne différait pas significativement de celui développé par les femelles non inséminées (60,90 œufs N=14), $p=0,68$

L'effet de l'insémination sur la production d'œuf se présente alors différemment selon que la femelle soit fécondée par le mâle de sa propre forme ou un mâle de forme différente

❖ Effet de la taille sur la fécondité

Le nombre d'œufs produits par la femelle a augmenté avec la taille de celle-ci (*Figure 8*) même en cas d'inter croisement avec $R=0,105$. 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. Briegel, (1990) a aussi trouvé que la taille de la femelle est un facteur

déterminant dans la production d'œufs même si cette dernière est affectée par la qualité du repas de sang. Ce qui explique que les femelles de grandes tailles contribuent le plus dans la prolifération des moustiques.

6.2. Evaluation de la longévité

6.2.1. Effet de l'insémination et de la taille sur la longévité

Le taux d'insémination (*tableau VII*) était beaucoup plus élevé chez la forme moléculaire M (68,6%) que chez la forme S (28,8%) ($p < 0,001$). Ceci pourrait s'expliquer par la mauvaise adaptation des formes moléculaires S dans les conditions de laboratoire, contrairement à la forme M.

Nous avons trouvé que les femelles M inséminées vivent en moyenne un peu plus longtemps (22,24 jours ; N=94) que les femelles M non inséminées (18,76 jours ; N=43), $p = 0,03$ (*Tableau VIII*). Ces résultats montrent que l'insémination a un effet positif sur la longévité des femelles de la forme moléculaire M. Kassogué, (2008) a trouvé un résultat similaire que l'insémination a un effet positif sur la longévité des femelles de forme moléculaire M d'*An. gambiae*.

Les femelles S inséminées ont eu une durée de vie moyenne (19,47, N=34) similaire à celle des femelles S non inséminées (18,99, N=84), $p = 0,78$. Ces résultats suggèrent donc que l'insémination n'a pas d'effet sur la longévité des femelles de la forme moléculaire S.

D'une manière générale, nous avons trouvé que les femelles de grande taille semblent vivre plus longtemps que celles de petites tailles des deux formes moléculaires M et S ($R = 0,105$ *figure 9*). Cela est comparable aux résultats de

Kassogué, (2008) ; qui avait trouvé une augmentation de la longévité des femelles de forme moléculaire M d'*An gambiae* en fonction de leur taille.

6.2.2. L'effet de l'activité sexuelle et de la taille sur la longévité des mâles

La durée de vie moyenne des mâles S non vierges (14,75jours, N=124) était inférieure à celles des mâles S vierges (17,47jours, N=194) $p < 0,001$. Egalement, les mâles M vierges (26,06 jours N=303) ont vécu plus longtemps que les non vierges (17,88 jours, N=139) $p < 0,001$ voir (Tableau X). Ce résultat témoigne que les mâles non vierges, quel que soit la forme moléculaire ont dépensé plus d'énergie dans la compétition pour l'accouplement avec les femelles en plus de l'énergie dépensée 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. Kassogué (2008) a trouvé un résultat similaire que l'accouplement réduit la longévité des mâles de façon générale et qu'il est plus coûteux pour les mâles de petites tailles.

Une corrélation entre la taille et la longévité a montré que d'une manière générale, nous avons trouvé que la durée de vie des mâles de formes moléculaires M et S a augmenté avec leur taille voire (figure 10) comme chez les femelles.



CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. Conclusion

Au terme de cette étude, il ressort que :

- L'insémination influence beaucoup la production d'œufs chez les femelles de la forme moléculaire M d'*An. gambiae* : les femelles inséminées développent plus d'œufs que les non inséminées.

Cette influence n'est pas observée lorsque les femelles M sont inséminées par les mâles S.

- Cette influence de l'insémination sur la fécondité n'a pas été observée chez les femelles de la forme moléculaire S inséminées par les mâles M

-Les femelles des formes moléculaires M et S de petite taille développent moins d'œufs que les femelles de taille plus grande

- Les femelles inséminées M vivent plus longtemps que les non inséminées par contre cette différence de longévité n'est pas significative chez les femelles S.

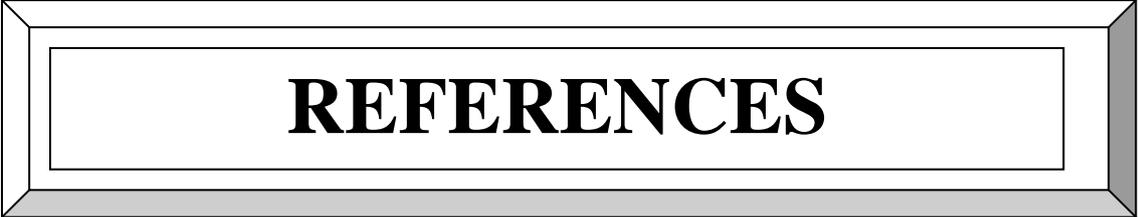
- L'activité sexuelle des mâles de forme moléculaire M et S diminue la longévité

- Chez les mâles et les femelles des formes moléculaires M et S, les individus de taille plus petite vivent moins longtemps que les individus de taille plus grande.

L'étude de la biologie et de l'écologie des vecteurs est un préalable indispensable à toute lutte anti-anophélienne. De façon générale, il reste beaucoup d'effort à faire pour réconcilier recherche de laboratoire et celle de terrain pour une meilleure compréhension de l'écologie des vecteurs.

Ainsi, nous recommandons :

- Au Ministère l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, 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 la capacité vectorielle.



REFERENCES

8. Bibliographies

- 1- Abdoulaye ADAMOU : Contribution des espèces vectrices à la transmission du paludisme et diagnostic du gène de résistance k.d.r chez les formes chromosomiques d'*An. gambiae* s.s. à Donéguébougou (Sous préfecture de Kati)." Mali 2004.
- 2- Antonio-Nkondjio, C., P. Awono-Ambene, J. C. Toto, J. Y. Meunier, S. Zebaze-Kemleu, R. Nyambam, C. S. Wondji, T. Tchuinkam, and D. Fontenille. High malaria transmission intensity in a village close to Yaounde, the capital city of Cameroon. *J. Med. Entomol* 2002. **39**:350–355.
- 3- Budiansky, S. Mosquitoes and disease. *Science*, **298**, 82-86 (2002).
- 4- Briegel H. Fecundity, metabolism, and body size in *Anopheles* (Diptera: Culicidae), vectors of malaria. *J Med Entomol*, 1990.; **27**(5): 839-50.
- 5- Clements A, the Biology of Mosquitoes. Development, Nutrition and Reproduction, Chapman & Hall (1992), London, 509 pp
- 6- Coetzee M, Craig M and le Sueur D. Distribution of African Malaria Mosquitoes Belonging to the *Anopheles gambiae* Complex. *Parasitology Today*, 2000; **16** (2): 74-77.
- 7- Coluzzi M. and Petrarca V. Aspirator with paper cup for collecting mosquitoes and others insects. *News*, 1973; **33**:249-250.

8- Della Torre A., Fanello C., Akogbeto M., Dossou-yovo J., Favia G., Petrarca V., and Coluzzi M.. Molecular evidence of incipient speciation within *Anopheles gambiae* s.s. in West Africa. *Insect Mol. Biol.* 2001; **10**: 9-18

9- Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs

www.who.int/malaria/docs/evc_lg2003_fr.pdf

10- 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): 461-4.

11- Fillinger U, Sonye G, Killeen GF, Knols BGJ, Becker N. The practical importance of permanent and semipermanent habitats for controlling aquatic stages of *Anopheles gambiae sensu lato* mosquitoes: operational observations from a rural town in western Kenya. *Trop Med Int Health*. 2004;**9**:1274–1289. doi: 10.1111/j.1365-3156.2004.01335.x.

12- Foster, W.A. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Annu Rev Entomol*, 1995; **40**: 443-74.

13- Frederic Tripet, Jennifer Wright, Anthon Cornel, Abdramane Fofana, Rory Mcabee, Claudio Menes , Lisa Reimer, Michel Slotman, Tara Thiemann, Guimogo Dolo, Sekou Traoré, and Gregory Lanzaro,. Longitudinal survey of knockdown resistance to pyrethroid (*kdr*) in Mali, West Africa, and evidence of ITS emergence in the Bamako form of *Anopheles gambiae* s.s. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; **76** (1): 81-87.

14- Gomulski L. Polyandry in nulliparous *Anopheles gambiae* mosquitoes (Diptera, Culicidae). *Bull Entomol Res*, 1990 ; **80**: 393–396.

15- Guimogo Dolo, Oliver J.T. Briët, Adama Dao, Sékou F. Traoré, Madama Bouaré, Nafomon Sogoba, Oumou Niaré, Magaran Bagayogo, Djibril Sangaré, Thomas Teuscher, Yeya T. Touré. Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Tropica* 2004; **89**: 147-159.

16- Holstein M. Etude sur l'anophélisme en AOF, Soudan Français, Bamako. *Bull. Soc. Path*, 1949; **42**: 374-378.

17- <http://lozere.org/perso/malaria/LUTTE-ANTILARVAIRE.htm>

18- 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

19- Kassogué Y. . Impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae*. Thèse, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Bamako, Mali, 2008.

20- Klowden MJ. Sexual receptivity in *Anopheles gambiae* mosquitoes: absence of control by male accessory gland substances. *J Insect Physiol*, 2001; **47**: 661–666.

21- Klowden MJ, Richard C Russell. Mating affects egg maturation in *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). *Vector Ecol*. 2004; **29(1)**: 135-9.

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

- 23- Maïga H.M ; Etude des variations saisonnières de fréquences de membres du complexe *Anopheles gambiae* à Douna (cercle de Bla) et à Moribabougou (cercle de Kati) – Thèse 3 cycle ISFRA 1985
- 24- 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.
- 25- Mouchet. J., Carnevale P., Coosemans M., Manguin S., Richard-Lenoble D., Sircoulon J., 2004. Biodiversité du paludisme dans le monde. 428P. John Libbey, Eurotext. <http://books.google.fr/books>
- 26- Nayar, J.K. and D.M. Sauerman, 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): 220-5.
- 27- OMS. Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, 2003.
- 28- OMS. Anonyme. COMITE D'EXPERTS DU PALUDISME, 2005. Vingtième rapport
- 29- Okanda, F.M., Dao A, Njiru BN, Arija J, Akelo HA et al. Behavioural determinants of gene flow in malaria vector populations: *Anopheles gambiae* males select large females as mates. *Malar J*, 2002; **1**: 10.

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

31- PNEP Tunisie ; www.malaria.tun

32- Sangaré D.. Dynamique des populations d'*An. gambiae s.l.*, d'*An. funestus* et de *Plasmodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguébougou (Arrondissement Central de Kati). *Thèse, de 3^{ème} cycle, ISFRA, Bamako* 2000

33- 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.

34- Tabachnick WJ. Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *Journal of Medical Entomol.* 2003; **40**(5):597-606.

35- Takken, W. and B. G J. Knols. Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. *Annu. Rev. Entomol* 1999; **44**:131–157

36- Touré YT, Petrarca V, Traoré SF, Coulibaly A, Maiga HM, Sankaré O, Sow M, Di Deco MA, Coluzzi M, : The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complexe in Mali, West Africa. *Parassitologia*, 1998 ; **40**: 477–511.

37- Touré Y. T. 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. 1979

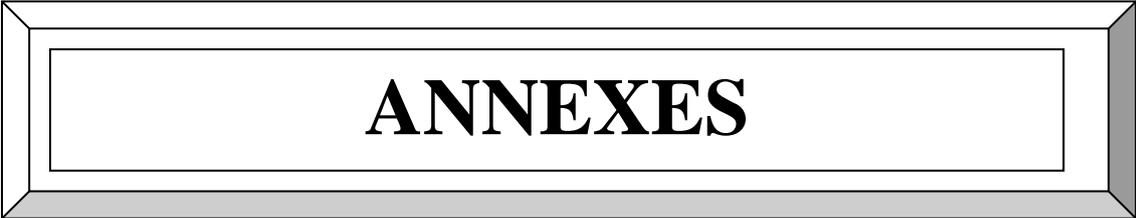
38- Touré, Y.T., The current stage of study of malaria vectors and vectorial campaign in West Africa. *Trans.R.Soc.Trop.Med.hyg*, 1989; **83**: 39-41.

39- Touré, Y.T., Petrarca .V, Traore S.F, Maiga H M, *et al.*, Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae s.s.* in Mali, West Africa. *Genetica*, 1994; **94**(2-3): 213-23.

40- Traore S; Etude du comportement et de la contribution à la transmission du paludisme des membres du complexe *Anopheles gambiae* à Banambani – Thèse doctorat, ISFRA-Bamako 1989

41- Tripet F, Touré Y, Taylor CE, Norris DE, Dolo G, Lanzaro GC,: DNA analysis of transferred sperm reveals significant levels of gene flow between molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex, *Mol Ecol* 2001; **10**: 1725–1732.

42- Yaro A.S. 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. 2007 Rapport N° 1.



ANNEXES

9. Annexes

9.1 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 x: 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/ μ l	18.75 ng
UN	20 ng/ μ l	12.5 ng
Taq polymerase	5U / μ l	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.

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

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

9.3 Electrophorèse de L'ADN

9.3.1 Préparation du Gel et Interprétation des bandes

Nous avons préparé un gel d'agarose à 2% sur lequel 10 μ l d'ADN mélangés à 2 μ l 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*).

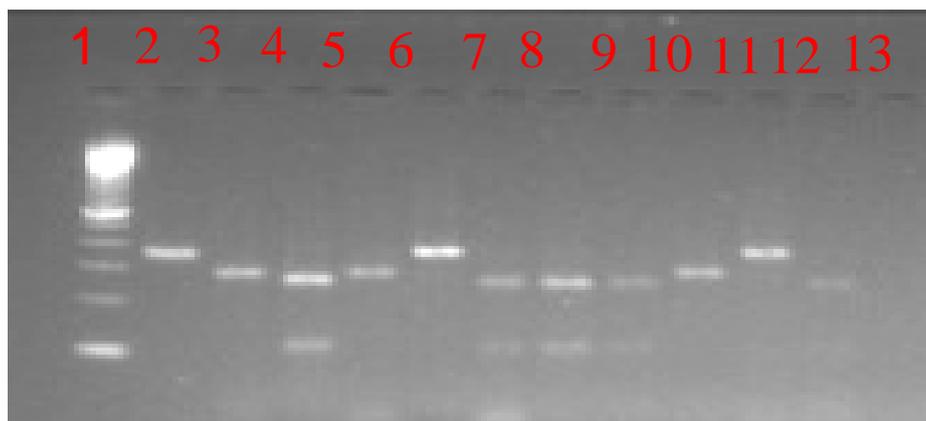


Figure 10: identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

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: Koné

Prénom: Massiriba

Titre : L'effet de l'insémination et de la taille sur la longévité et la fécondité des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae*.

Année de soutenance : 2009

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 septembre 2007 à décembre 2007, une étude s'est déroulée au MRTC portant sur l'impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité des formes moléculaires M et S d'*An.gambiae*.

Les femelles sauvages collectées dans trois localités différentes : Donéguébougou, Soulouba et Niono. Elles ont été mises en pontes individuelles. Après identification des femelles sauvages et de deux larves L1 par la PCR, seules les F1 des formes moléculaires M et S 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 2-3 jours. Des paramètres tels que la fécondité des femelles, l'activité sexuelle des mâles ainsi que la durée de vie des moustiques ont été évalués.

En comparant le nombre d'oeufs développés par les femelles inséminées et les femelles non inséminées, nous avons trouvé une différence statistiquement significative chez les femelles de forme M $p < 0,001$. Par contre cette différence n'était pas significative chez les femelles de forme S $p = 0,16$

Aussi, les femelles M inséminées (jours) ont vécu plus longtemps que les non inséminées (jours); $p = 0,03$ contrairement chez la forme S où cette différence n'était pas observée.

La taille des femelles a positivement influencé la fécondité et la longévité chez les deux formes moléculaires M et S.

Chez les mâles, l'activité sexuelle a fortement diminué leur longévité et que les mâles de petite taille ont eu une durée de vie moyenne plus courte que les grandes tailles

Ces données contribueront dans l'utilisation des différentes stratégies de lutte anti vectorielle par des moustiques génétiquement modifiés.

Mots clés: *An. gambiae* formes moléculaires M et S, insémination, fécondité, longévité.

First name: Koné

Surname: Massiriba

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

Date: 2009

City: Bamako

Country: Mali

Depository: Bookcase of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odonto-stomatology

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 and S of *An. gambiae* was conducted in the laboratory of Malaria Research and Training Center (MRTC) from September 2007 to December 2007.

Wild females collected in three different localities: Doneguebougou, Soulouba and Niono were putted in individual tubes for oviposition. After identification of the wild females and two L1 larvae by the PCR, only molecular F1 of M and S form were taken into account.

The larvae were high under similar conditions until the pupae stage. Adults emergences were separate to avoid 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.

By comparing the number of eggs developed by the inseminated females and the not inseminated females, we have on the other hand found a difference statistically significant in the females of form M $p < 0,001$; this difference was not significant in the females of form S $p = 0,16$

Also, the females M inseminates lived longer than not inseminates; $p=0,03$ contrary at the form S or this difference was not observed.

The size of the females has influence positively fecundity and longevity of the two molecular forms M and S.

In the males, the sexual activity strongly affect their longevity suggesting that the males of small size lived less longer than the big sizes

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

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'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure!