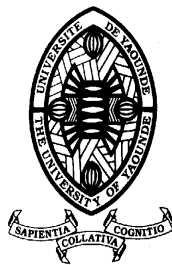


UNIVERSITE DE YAOUNDE I

UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE ET ECOLOGIE

PARASITOLOGY AND ECOLOGY LABORATORY

**Faune culicidienne et transmission du paludisme dans la
localité de Pouth-Kélé, District de santé d'Eséka**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie des
Organismes Animaux Option : Parasitologie et Ecologie

Par

NGO PIIM BIKOY Elisabeth Méline

Matricule : 14R2610

Licenciée ès-Sciences



Sous la direction de

et

la supervision de

ETEME ENAMA Serge
Chargé de cours

ETANG Josiane Désirée
Maître de Conférences

Université de Yaoundé I

Université de

Douala

Année académique 2021-2022

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes parents M. BIKOY Elie et Mme BIKOY Née NGO NGUE
Angeline Pauline.

REMERCIEMENTS

L'élaboration de ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien de plusieurs personnes à qui je tiens profondément à exprimer ma reconnaissance. Je remercie :

- Dr. ETEME ENAMA Serge, Chargé de Cours à l'Université de Yaoundé 1, d'avoir accepté d'encadrer ce travail ;
- Pr. ETANG Josiane Désirée, Maître de conférences à la Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Douala, pour m'avoir accepté dans son équipe de recherche en me proposant ce sujet de Mémoire et pour son accompagnement tout au long du travail ;
- Pr. KAMGNO Joseph, Directeur du Centre de Recherche sur les Filarioses et autres Maladies Tropicales (CRFILMT), pour l'appui financier mis à ma disposition dans le cadre du Projet « Slash and Clear » ;
- le Chef et les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales pour tous les enseignements et les conseils reçus ;
- Dr. AWONO AMBENE Herman Parfait de l'Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), pour m'avoir acceptée comme étudiante stagiaire au laboratoire de Recherche sur le paludisme ;
- Dr. NWANE Philippe, qui m'a accompagné et encouragé tout au long de cette étude ; ses orientations, conseils et enseignements m'ont permis d'accomplir ce travail.
- M. ONANA Etienne, pour son aide remarquable lors des descentes sur le terrain ;
- les membres du groupe de recherche *Pathogens and Vectors Research Group* (PaVeRG) de l'OCEAC, en particulier Dr. EKOKO WOLFGANG, Dr. MBAKOP Lilly, M. TOTO, Mr. PIAMEU Michael, M. MANDENG Stanislas, M. ALENOU Leo Dilane, pour les conseils prodigués ainsi que leurs apports multiformes lors de la rédaction de ce Mémoire ;
- l'ensemble du personnel de l'OCEAC et du CRFILMT pour leur collaboration ;
- l'ensemble des étudiants stagiaires de l'OCEAC, du CRFILMT pour leurs encouragements ;
- mes camarades de la promotion 'Adaptation' en particulier NGONO Elisabeth, FONGANG Juvenal ;
- toute ma famille, si grande et donc je ne saurais énumérer les noms de tous les membres ; leur assistance multiforme à mes côtés ne permet pas de trouver les mots pour exprimer ma reconnaissance : Mes sœurs NGO BIKOY Marie, NGO BIKOY Esther, NGO BIKOY Angeline, Mon frère BIKOY Elie ;
- tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce Mémoire et dont les noms ont été oubliés ;

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
ABREVIATION.....	vii
RESUME.....	viii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE.....	3
I.1 Généralités sur les culicidés.....	3
I.1.1 Position systématique des Culicidés.....	3
I.1.2 Morphologie générale des Culicidés adultes.....	4
I.1.3 Caractères distinctifs des Culicidés.....	8
I.1.4 Biologie des Culicidés.....	9
I.2 Généralités sur la transmission du paludisme	11
I.2.1 Phase asexuée chez l’hôte vertébré (hôte intermédiaire)	11
I.2.2 Phase sexuée chez l’anophèle femelle (hôte définitif)	11
I.2.3 Faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun.....	12
I.2.4 Lutte contre le paludisme.....	13
CHAPITRE II : CADRE GEOGRAPHIQUE ET METHODES.....	16
II.1 Cadre géographique et période d’étude.....	16
II.2 Matériel.....	17
II.3 Méthodes.....	17
II.3.1 Collecte des données.....	17
II.3.2 Analyses statistiques des données.....	25

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	29
III.1 Résultats.....	27
III.1.1 Composition et abondance de la faune culicidienne.....	27
III.1.2 Agressivité de la faune anophélienne.....	29
III.1.3 Indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme.....	32
III.2 Discussion.....	34
CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	40

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Figure 1 : Morphologie générale d'un culicidé femelle.....	5
Figure 2 : Photographie d'un moustique du genre <i>Aedes</i>	6
Figure 3 : Photographie d'un moustique du genre <i>Anopheles</i>	7
Figure 4 : Photographie de <i>Culex quinquefasciatus</i>	7
Figure 5 : Photographie d'un moustique du genre <i>Mansonia</i>	8
Figure 6 : Particularités morphologiques des principaux genres de Culicidés d'intérêt médical	9
Figure 7 : Cycle de développement des Culicidés	10
Figure 8 : Cycle de développement du <i>Plasmodium</i>	12
Figure 9 : Faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun.....	13
Figure 10 : Localisation géographique de Pouth-Kéllé.....	16
Figure 11 : Photographie d'un volontaire humain en pleine séance de capture à l'extérieur de la maison	18
Figure 12 : Dépouillement et identification morphologique des moustiques.	19
Figure 13 : Photographie de l'étape d'amplification de l'ADN dans un Thermocycleur.	21
Figure 14 : Différentes étapes et cycles de températures d'une PCR pour l'identification des espèces du complexe <i>A. gambiae</i>	22
Figure 15 : Photographie d'un gel d'agarose après migration électrophorétique	23
Figure 16 : Répartition par genre des moustiques capturés entre février et juillet 2021 à Pouth-Kéllé.....	27
Figure 17 : Abondance mensuelle de la faune culicidienne échantillonnée entre février et juillet 2021.....	28
Figure 18 : Composition spécifique de la faune anophélienne échantillonnée entre février à juillet 2021.	28
Figure 19 : Répartition des espèces du complexe <i>A. gambiae</i> dans le site d'étude entre février à juillet 2021.	29
Figure 20 : Cycle d'agressivité horaire des espèces anophéliennes à l'intérieur des maisons.	30
Figure 21 : Cycle d'agressivité horaire des espèces d'anophéliennes à l'extérieur des maisons	30
Figure 22 : Cycle d'agressivité mensuelle des espèces anophéliennes entre février à juillet 2021.....	31
Figure 23 : Variations mensuelles du taux d'inoculation entomologique des espèces anophéliennes à Pouth-Kéllé.....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Position systématique des Culicidés dans le règne animal.....	3
Tableau II : Composition du milieu réactionnel d'une PCR pour l'indentification des espèces du complexe <i>A. gambiae</i>	21
Tableau III : Composition du milieu réactionnel d'une digestion enzymatique spécifique des membres du complexe <i>A. gambiae</i>	22
Tableau IV : Agressivité des espèces anophéliennes exprimée en nombre de piqûre reçue par homme par nuit.....	32
Tableau V : Indice sporozoïtique des espèces anophéliennes	33
Tableau VI : Taux d'inoculation entomologique des espèces anophéliennes	33

ABREVIATIONS

A	:	<i>Anopheles</i>
ACm	:	Anticorps monoclonal de capture
ADN	:	Acide DésoxyriboNucléique
Ae	:	<i>Aedes</i>
CRFILMT	:	Centre de Recherche sur les Filarioses et autres Maladies Tropicales
CSP	:	Protéine CircumSporozoïtique
CTAB	:	Cétyl-triméthyl ammonium bromide
Cx	:	<i>Culex</i>
dNTP	:	Désoxyribonucléotide triphosphate
ELISA	:	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
Hhal	:	<i>Haemophilus haemoliticus</i>
IC	:	Intervalle de Confiance
Ma	:	<i>Mansonia</i>
OCEAC	:	Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
P	:	<i>Plasmodium</i>
PCD	:	Plan Communal pour le Développement
PCR-RFLP	:	<i>Polymerase Chain Reaction-Restriction fragment Length Polymorphism</i>
PSNLP	:	Plan Stratégique National pour la Lutte contre le Paludisme
T.A	:	Température Ambiante
TBE	:	Tris-Borate-ETDA
Trs/min	:	Tours par minute

RÉSUMÉ

Les Culicidés ou moustiques transmettent diverses affections aux populations animales et humaines, notamment le paludisme qui demeure un problème de santé publique majeur au Cameroun. L'élimination des maladies parasitaires à transmission vectorielle repose en grande partie sur la lutte contre les vecteurs. L'efficacité de cette lutte dépend des informations sur ces derniers, leurs comportements et leurs implications variés dans la transmission des agents pathogènes. Le présent travail avait pour but d'étudier la bionomie des moustiques vecteurs du paludisme dans la localité de Pouth-Kéllé, Région du Centre au Cameroun, durant la période de février à juillet 2021. Ainsi dans le cadre d'une étude longitudinale, des échantillons des populations de moustiques ont été collectés par des volontaires, pendant deux jours consécutifs chaque mois, de 18h à 06h du matin, à l'intérieur et à l'extérieur de trois maisons sélectionnées dans notre site d'étude. Après l'identification morphologique, les spécimens capturés ont été dénombrés et classés par genre. Les échantillons du genre *Anopheles* ont été transférés au laboratoire de recherche sur le paludisme de l'OCEAC (1) pour l'identification moléculaire des espèces du complexe *A. gambiae* par la technique de PCR-RFLP, et (2) pour la recherche de l'infection à *Plasmodium falciparum* par la technique d'ELISA-CSP. Au total, 1027 moustiques ont été collectés et classés en quatre genres : *Anopheles* (N=756 ; 73,6%), *Culex* (N=150 ; 14,6%), *Aedes* (N=120 ; 11,7%) et *Mansonia* (N=1 ; 0,1%). Le genre *Anopheles* était constitué d'*A. gambiae* s.l. (N=486 ; 64,3%), *A. nili* (N=154 ; 20,4%), *A. funestus* (N=115 ; 15,2%) et *A. paludis* (N=1 ; 0,1%). Le complexe *A. gambiae* (*A. gambiae* s.l.) était constitué à 98% d'*A. gambiae* et 2% d'*A. coluzzii*. Le complexe *A. gambiae* a montré des pics d'agressivité entre 24h-02h puis 04h-06h à l'intérieur, et 02h-04h à l'extérieur des maisons. Avec *A. funestus*, les pics étaient toujours observés entre 24h-02h et 02h-04h tant à l'intérieur qu'à l'extérieur des maisons ; enfin chez *A. nili* les pics étaient observés de 22h-24h à l'intérieur et de 20h-22h à l'extérieur des maisons. Ces trois espèces de moustiques se sont avérées être des vecteurs de *Plasmodium falciparum*. *Anopheles gambiae* s.l. est apparu comme vecteur majeur du paludisme à Pouth-Kéllé, avec un taux d'inoculation entomologique de 0,6 piqûre infestante par homme et par nuit, suivi d'*A. funestus* (0,13pi/h/n) et *A. nili* (0,03pi/h/n). A Pouth-Kéllé, ces espèces vectrices assurent une transmission du paludisme, permanente pour *A. gambiae* s.l. mais périodique pour *A. funestus* et *A. nili* aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des maisons. Ces données préliminaires pourraient servir à la mise en place de nouvelles mesures de lutte anti-vectorielles complémentaires aux stratégies déjà en vigueur afin de réduire les densités de moustiques à Pouth-Kéllé.

Mots clés : Culicidés, Paludisme, *Plasmodium*, *Anopheles*, Pouth-Kéllé, Eséka.

ABSTRACT

Culicidae or mosquitoes transmit various diseases to animal and human populations, including malaria, which remains a major public health problem in Cameroon. The elimination of vector-borne parasitic diseases is largely based on vector control. The effectiveness of this control depends on information on vectors, their behaviour and their various implications in the transmission of pathogens. The aim of the present work was to study the bionomics of malaria mosquito vectors in the locality of Pouth-Kéllé, Central Region of Cameroon, during the period February to July 2021. As part of a longitudinal study, mosquito population samples were collected by volunteers on two consecutive days each month, from 18:00 to 06:00 in the morning, inside and outside three selected houses in our study site. After morphological identification, the captured specimens were counted and classified by genus. Samples of the genus *Anopheles* were transferred to the OCEAC malaria research laboratory (1) for molecular identification of *A. gambiae* complex species by PCR-RFLP and (2) for testing for *Plasmodium falciparum* infection by CSP-ELISA. A total of 1027 mosquitoes were collected and classified into four genera: *Anopheles* (N=756; 73.6%), *Culex* (N=150; 14.6%), *Aedes* (N=120; 11.7%) and *Mansonia* (N=1; 0.1%). The genus *Anopheles* consisted of *A. gambiae* s.l. (N=486; 64.3%), *A. nili* (N=154; 20.4%), *A. funestus* (N=115; 15.2%) and *A. paludis* (N=1; 0.1%). The *A. gambiae* complex (*A. gambiae* s.l.) consisted of 98% *A. gambiae* and 2% *A. coluzzii*. The *A. gambiae* complex showed peaks of aggressiveness between 24:00-02:00 and 04:00-06:00 indoors and 02:00-04:00 outside the houses. With *A. funestus*, peaks were always observed between 24:00-02:00 and 02:00-04:00 both inside and outside the houses; finally with *A. nili* peaks were observed between 22:00-24:00 inside and 20:00-22:00 outside the houses. All three species of mosquito were found to be vectors of *Plasmodium falciparum*. *Anopheles gambiae* s.l. emerged as the major malaria vector in Pouth-Kéllé, with an entomological inoculation rate of 0.6 infesting bites per man per night, followed by *A. funestus* (0.13ib/m/n) and *A. nili* (0.03ib/m/n). In Pouth-Kéllé, these vector species ensure malaria transmission, permanent for *A. gambiae* s.l. but periodic for *A. funestus* and *A. nili* both inside and outside the houses. These preliminary data could be used to develop new vector control measures to complement existing strategies to reduce mosquito densities in Pouth-Kéllé.

Key words : *Culicidae*, Malaria, *Plasmodium*, *Anopheles*, Pouth-Kellé, Eséka.

INTRODUCTION

Les insectes sont aujourd'hui de petits animaux invertébrés, terrestres et dulcicoles dont le corps est divisé en trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen. Parmi les insectes, les Culicidés (*Culicidae*), ou moustiques, constituent une famille dont l'ensemble des individus forment la faune culicidienne (Meyer, 2015).

Les moustiques représentent le principal groupe de vecteurs impliqués dans la transmission d'agents pathogènes aux hommes et aux animaux (Becker *et al.*, 2003). Ils sont vecteurs des plasmodies, des filaires (des genres *Wuchereria* et *Brugia*), et des arboviroses (Becker *et al.*, 2010). Ces agents pathogènes causent des maladies qui peuvent entraîner la mort des individus hôtes (OMS, 2019).

Les maladies transmises par les moustiques demeurent un sérieux problème de santé dans les zones tropicales et subtropicales du monde (OMS, 2019). Selon l'OMS, elles représentent environ 17 % de la charge totale de toutes les maladies infectieuses. Par exemple en 2020, on a enregistré au niveau mondial 241 millions de cas et 627 000 décès dus au paludisme dont 96% étaient enregistrés en Afrique (OMS, 2021). Les enfants de moins de 5 ans sont les principales victimes de cette maladie ; sur le continent africain, ils totalisent 80% de tous les décès (OMS, 2021). Chaque année, on enregistre environ 96 millions de cas symptomatiques et 40 000 décès dus à la dengue (OMS, 2019). On compte plus de 38 millions de cas de filariose lymphatique sur le continent africain; la fièvre jaune aussi touche près de 130 000 personnes et cause 500 décès par an (OMS, 2019). Parmi ces maladies, le paludisme apparaît comme l'une des plus fréquentes (OMS, 2019). Au Cameroun, 11 millions de cas et plus de 11 000 décès dus au paludisme ont été enregistrés en 2020, dont 60% étaient les enfants (OMS, 2021).

La lutte contre les maladies à transmission vectorielle repose en grande partie sur le contrôle des vecteurs (OMS, 2019). Les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation intra-domiciliaire (PID) d'insecticides à effet rémanent sont les principaux outils utilisés par les programmes de lutte contre les vecteurs (OMS, 2019). Malgré des avancées importantes, cette lutte continue de faire face à de nombreuses difficultés, à cause du manque d'informations de base sur les vecteurs pouvant permettre l'optimisation de l'efficacité des outils de lutte. Parmi ces difficultés, l'on peut évoquer la résistance croissante des vecteurs aux insecticides et la tendance de ces insectes à modifier leur comportement trophique, de piqûre ou de repos (Nwane *et al.*, 2013 ; Etang *et al.*, 2016 ; Mandeng *et al.*, 2019 ; Ekoko *et al.*, 2019 ; OMS, 2019). Pour une lutte effective

contre ces maladies à transmission vectorielle, il est nécessaire de caractériser les populations de vecteurs afin de mettre en place une surveillance entomologique efficace.

Au Cameroun, de nombreuses études entomologiques ont été réalisées dans plusieurs Régions et zones écologiques ; chacune d'elles a apporté une contribution à une meilleure connaissance de ces vecteurs, des parasites dont ils assurent la transmission et leurs différents hôtes (Adam, 1956 ; Cavalie *et al.*, 1961 ; Rickenbach *et al.*, 1972 ; Carnevale *et al.*, 1992 ; Nimpaye *et al.*, 2001 ; Simard *et al.*, 2005 ; Antonio *et al.*, 2012 ; Saotoing *et al.*, 2014 ; Kamgang *et al.*, 2017 ; Ekoko *et al.*, 2019 ; Etang *et al.*, 2022). Cependant, dans la Région du Centre, plus précisément dans le Département du Nyong et Kélé, les données de base sur la faune culicidienne sont rares, voire inexistantes. Pourtant ces données entomologiques sont nécessaires pour établir le profil de transmission des maladies vectorielles telles que le paludisme, la fièvre jaune, la dengue, etc... et de proposer des stratégies appropriées de lutte anti-vectorielle contre leur circulation au sein des populations humaines. C'est pour pallier à ce manque d'information que nous nous sommes proposés d'étudier la faune culicidienne qui pourrait être impliquée dans la transmission des maladies infectieuses dans la localité de Pouth-Kélé.

L'objectif général de ce travail était d'étudier la bionomie des moustiques vecteurs de maladies dans la localité de Pouth-Kélé.

Deux objectifs spécifiques ont été fixés à savoir :

- inventorier la faune culicidienne, vectrice de maladies ;
- caractériser les vecteurs et la transmission du paludisme à l'intérieur et à l'extérieur des maisons.

En plus de la partie introductive, notre travail se subdivise en trois chapitres : un premier chapitre consacré à la revue de littérature ; un second chapitre qui présente le cadre géographique, le matériel et les méthodes utilisés pour atteindre nos objectifs, un troisième chapitre qui présente les résultats obtenus et la discussion qui en découle. Ce travail se termine par une conclusion, des perspectives et des recommandations.

CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1 Généralités sur les Culicidés

Les Culicidés, communément appelés moustiques, sont des insectes qui jouent un rôle important dans la transmission d'un certain nombre de maladies tropicales ; cette transmission se fait à travers leurs piqûres douloureuses et gênantes qu'ils infligent à leurs hôtes. Selon l'OMS (2019), les maladies transmises par les moustiques représentent environ 17 % de la charge totale de toutes les maladies infectieuses. Parmi ces maladies, nous avons : le paludisme, le chikungunya, la dengue, l'encéphalite japonaise, la fièvre jaune, la filariose lymphatique, etc (Antonio *et al.*, 2006). De par sa large répartition géographique et le nombre de ses victimes qui se compte par millions, le paludisme demeure la plus importante. Au niveau mondial, près de 50 % de la population vit dans des zones endémiques au paludisme. Quelques arboviroses se propagent également dans le monde, en particulier la dengue qui touche près de 40 % de la population mondiale vivant dans les zones endémiques (OMS, 2020). Ces maladies sont largement répandues dans les zones tropicales et subtropicales mais elles sont surtout présentes en Afrique, en Asie du Sud-Est, en Amérique du Sud et en Amérique Centrale (OMS, 2021).

Au Cameroun, les maladies à transmission vectorielle sont présentes dans différentes régions. Parmi ces maladies, l'émergence des arboviroses a été signalée chez les patients fébriles et non fébriles dans différentes localités du pays (Tchuandom *et al.*, 2018 ; Tchuandom *et al.*, 2020). La dengue et le chikungunya ont été signalés dans les grandes villes telles que Yaoundé, Douala et Garoua, et dans certains milieux ruraux (Demanou *et al.*, 2010 ; Demanou *et al.*, 2014 ; Tchuandom *et al.*, 2020).

I.1.1 Position systématique des Culicidés

Les Culicidés sont divisés en deux sous-familles, regroupées en 112 genres avec plus de 3500 espèces décrites (Harbach, 2008) :

- la sous-famille des Culicinae qui comprend les genres *Culex*, Linné 1758, *Aedes*, Meigen 1818 et *Mansonia*, Blanchard 1901 ;
- la sous-famille des Anophelinae qui comprend trois genres (*Bironella*, *Chagasia* et *Anopheles*) parmi lesquels seul le genre *Anopheles*, Meigen 1818 a une importance médicale.

La classification des Culicidés selon Grassé (1961) ainsi que Boué & Chanton (1962), est présentée dans le tableau I ci-après.

Tableau I : Position systématique des Culicidés dans le règne animal selon Grassé (1961), Boué & Chanton (1962)

Niveaux taxonomiques	Termes scientifiques	Caractères généraux
Embranchement	Arthropodes (Siebold et Stannus, 1845)	Corps à symétrie bilatérale, pourvu d'appendices articulés, et couvert d'une cuticule rigide constituant l'exosquelette.
Sous-embranchement	Mandibulates ou Antennates	Présence d'une paire de mandibules et d'une paire d'antennes
Classe	Insectes	Corps divisé en trois tagmes : tête, thorax et abdomen ; trois paires de pattes ; respiration trachéenne.
Sous-classe	Ptérygotes	Présence d'ailes
Section	Oligonéoptères	Champ jugal avec une seule nervure longitudinale simple ; ailes repliées en arrière au repos.
Super-ordre	Mécoptéroïdes (Brauer, 1885)	Présence des pièces buccales de type suceur ou piqueur. Stipes des maxilles divisés transversalement.
Ordre	Diptères (Linné, 1758)	Présence d'une seule paire d'ailes antérieure ; les ailes postérieures étant transformées en balanciers. Pièces buccales de type piqueur-suceur ;
Sous-ordre	Nématocères (Latreille, 1825)	Antennes longues et multiarticulées ; palpes grêles formés de deux à cinq articles.
Famille	Culicidae (Latreille, 1825)	Corps recouvert d'écailles filiformes ; repas sanguin obligatoire chez la femelle ; appareil buccal avec une trompe allongée toujours dirigée vers l'avant.

I.1.2 Morphologie générale des Culicidés adultes

A l'état adulte, les Culicidés ont un corps allongé et subdivisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (figure 1). La tête porte deux gros yeux composés. Sur le front, s'insèrent deux antennes longues souvent plumeuses chez le mâle et filiformes chez la femelle. L'appareil buccal est constitué d'une trompe très développée qui résulte de la transformation des pièces buccales, à savoir le labium, le labre, les mandibules, les maxilles, et l'hypopharynx. En dessous des antennes et de part et d'autre de la trompe se situent deux palpes maxillaires articulés (Blanchard, 1905).

Le thorax est formé de trois segments : le prothorax, le mésothorax et le métathorax.

Il porte une paire de pattes multiarticulées par segment, qui comprennent du corps vers l'extrémité les articles suivants : la hanche, le trochanter, le fémur, le tibia et le tarse formé de cinq articles. Le prothorax est subdivisé antérieurement en un anté-pronotum suivi d'un petit post-pronotum. Le mésothorax, très développé, représente le thorax presque tout entier et comprend dorsalement trois parties distinctes : le scutum, le scutellum et le post-notum (figure 1). Sa face dorsale porte également les ailes qui se replient sur l'abdomen au repos. Le métathorax est très réduit et fusionne avec le premier segment abdominal ; il porte les haltères qui servent d'organes d'équilibration lors du vol (Blanchard, 1905).

L'abdomen comprend dix segments dont les sept premiers sont bien distincts. L'armature génitale est portée par les trois derniers segments abdominaux (Carnevale *et al.*, 2009) (Figure 1). Lorsque l'insecte est gorgé, l'abdomen prend une forme plus ou moins globuleuse avec une coloration rouge, verte ou jaunâtre, en fonction du repas pris par le moustique (repas de sang ou d'un suc végétal) (Blanchard, 1905).

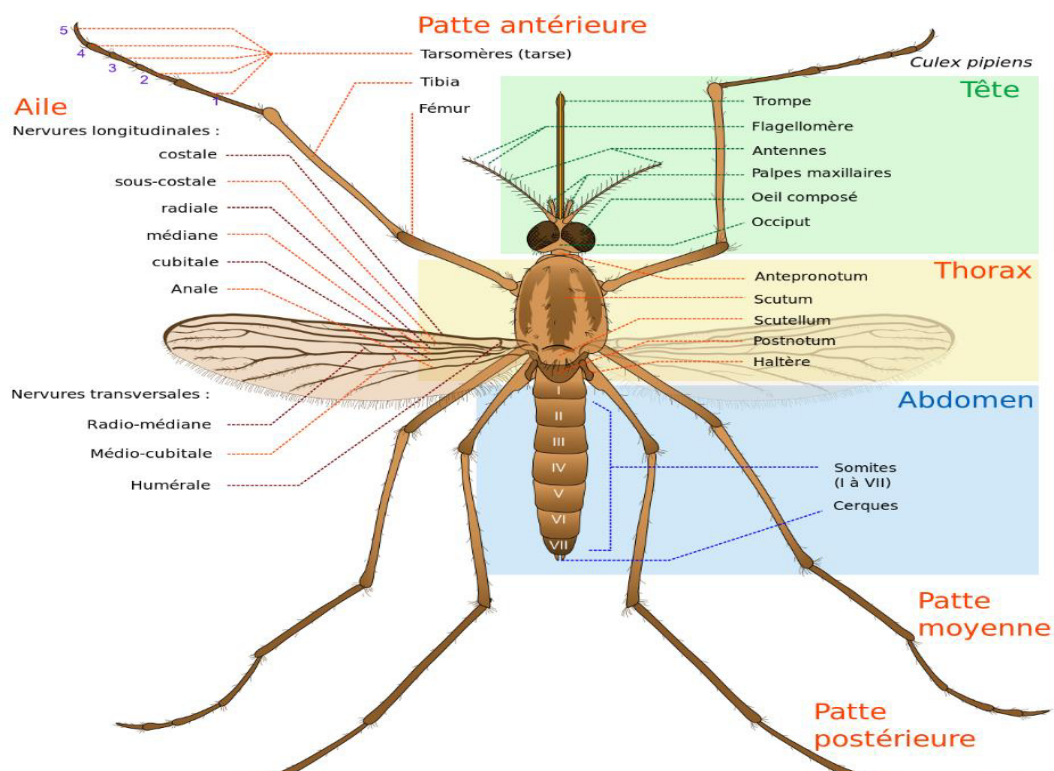


Figure 1 : Morphologie générale d'un culicidé femelle (OMS, 1973).

I.1.2.1 Genre *Aedes*

Chez le genre *Aedes*, le corps mesure environ 3 à 8 mm de long. Les espèces de ce genre ont une apparence « tigrée » qui résulte de la présence d'écailles blanches sur plusieurs segments du corps (figure 2). Au niveau des pattes, le tarse est composé de cinq articles ou tarsomères, dont quatre possèdent chacun un anneau continu d'écailles blanches à la base ; le

dernier tarsomère est entièrement constitué d'écailles blanches. La partie dorsale du thorax (scutum) est couverte d'écailles noires alors qu'au milieu se trouve une ligne bien visible d'écailles blanches. Les palpes sont courts chez le mâle et la femelle ; ils possèdent des écailles noires à la base et blanches à la pointe (Skuse *et al.*, 1894 ; Becker *et al.*, 2008). Environ 77 espèces du genre *Aedes* (*Ae*) ont été signalées au Cameroun (Bamou *et al.*, 2021). Les espèces les plus étudiées sont *Ae. aegypti* Linné, 1762, *Ae. africanus* Theobald, 1901, *Ae. albopictus* Skuse, 1894 et *Ae. simpsoni* Theobald, 1905. Ces espèces sont largement répandues sur le territoire national. *Aedes aegypti* et *Ae. albopictus* sont fortement impliqués dans la transmission de la dengue, du chikungunya et de la fièvre jaune (Fontenille *et al.*, 2001 ; Bamou *et al.*, 2021).



Figure 2 : Photographie d'un moustique du genre *Aedes* (Gathany-CDC, 2002).

I.1.2.2 Genre *Anopheles*

Chez le genre *Anopheles* le corps est de couleur brun-noir ; les palpes sont aussi longs que la trompe (figure 3, page 7). On note la présence de nombreuses écailles, sombres ou claires au niveau des palpes, des pattes et des ailes, dont le nombre, la taille, la disposition et l'absence (en particulier au niveau des pattes) permettent de distinguer les espèces ; l'abdomen porte des soies et des poils (Gillies & De Meillon, 1968 ; Carnevale *et al.*, 2009). Au Cameroun, la faune anophélienne est constituée d'environ 60 espèces dont environ 18 sont vectrices du paludisme (Bamou *et al.*, 2021). Ces espèces sont également impliquées dans la transmission de la filariose lymphatique (Boussinesq, 1999). Les espèces majeures qui sont impliquées dans la transmission du paludisme sont : *A. gambiae* Giles, 1902, *A. arabiensis* Patton, 1905, *A. coluzzii* Coetzee, 2013, *A. funestus* Giles, 1900, *A. moucheti* Evans, 1925, et *A. nili* Theobald, 1904. *Anopheles gambiae* et *A. funestus* sont largement répandus à travers le pays tandis qu'*A. moucheti* et *A. nili* sont inféodés aux zones forestières du Sud-Cameroun, où ils se développent au bord des grands cours d'eau (Mouchet *et al.*, 1984 ; Fontenille *et al.*, 2003). Les espèces secondaires qui assurent une transmission localisée ou limitée du paludisme, du fait de leur

distribution restreinte dans l'environnement sont : *A. paludis* Theobald, 1900, *A. hancocki* Edwards, 1929, *A. melas* Theobald, 1903, *A. pharoensis* Theobald, 1901, *A. ovengensis* Awono-Ambéné, 2004, *A. marshallii* Theobald, 1903, *A. lessoni* Evans, 1931, *A. rufipes* Gough, 1910, *A. ziemanni* Grunberg, 1902, *A. carnevalei* Brunhes, 1998, *A. coustani* Laveran, 1900 et *A. wellcomei* Theobald, 1904 (Gillies *et al.*, 1987 ; Fontenille *et al.*, 2000 ; Mouchet, 2004 ; PNLP, 2018 ; Bamou *et al.*, 2021).

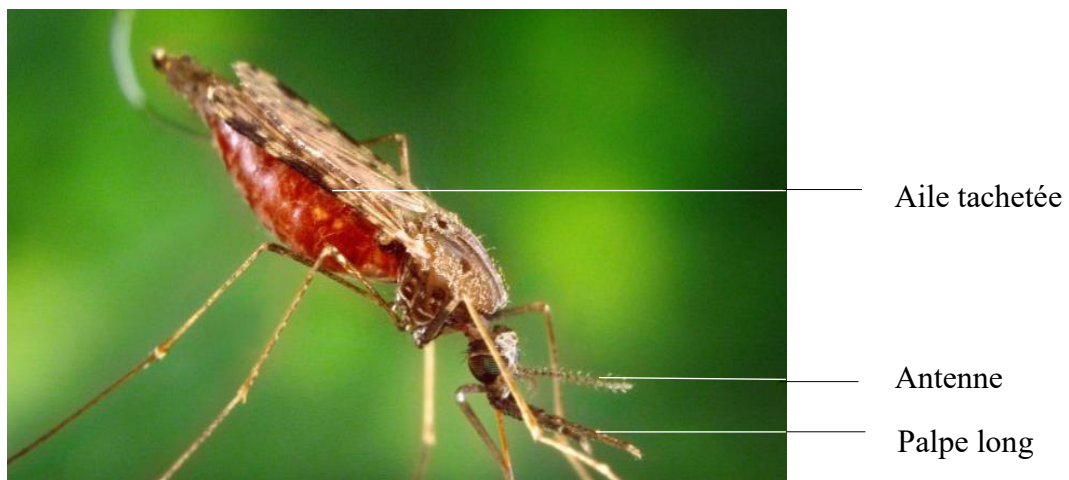


Figure 3 : Photographie d'un moustique du genre *Anopheles* (Gathany-CDC, 2000).

I.1.2.3 Genre *Culex*

Chez le genre *Culex* le corps est orné d'écailles ; les palpes sont courts chez la femelle, longs et effilés à l'extrémité chez le mâle. La membrane alaire est généralement claire et incolore (figure 4). Environ 67 espèces du genre *Culex* (*Cx*) sont connues au Cameroun (Bamou *et al.*, 2021). Cependant, celles qui méritent une attention particulière sont *Cx. quinquefasciatus* Say, 1823 et *Cx. tigripes* De Grandpré, 1900. *Culex tigripes* est la seule espèce au Cameroun dont les larves dévorent celles des autres Culicidés (Rageau *et al.*, 1952). *Culex quinquefasciatus* est l'espèce responsable de la plus grande part de la nuisance culicidienne en milieu urbain au Cameroun (Fondjo *et al.*, 1992 ; Manga *et al.*, 1992 ; Nimpaye *et al.*, 2001). Cette espèce est également responsable de la filariose de Bancroft (Scholte *et al.*, 2003).



Figure 4 : Photographie de *Culex quinquefasciatus* (Smith collection/ united states, 2003).

I.1.2.4 Genre *Mansonia*

Chez le genre *Mansonia* le corps est recouvert d'écailles brun-foncé ou plus claires qui leur donnent un aspect poussiéreux (figure 5). Les espèces *Mansonia africana* Theobald, 1901 et *Mansonia uniformis* Theobald, 1901 sont les plus connues au Cameroun. Leur présence a été signalée dans toutes les régions du pays (Rageau *et al.*, 1952 ; Rickenbach *et al.*, 1976a ; Bamou *et al.*, 2021). Leur implication dans la transmission de la filariose lymphatique en Afrique Centrale n'a pas encore été clairement élucidée.



Figure 5 : Photographie d'un moustique du genre *Mansonia* (Russell, 1999).

I.1.3 Caractères distinctifs des Culicidés

Certains caractères morphologiques observables sur les œufs, les larves, les nymphes et les adultes permettent de différencier les Culicinés des Anophelinés (Lane & crosskey, 1993).

Les œufs de Culicidés sont pondus soit en radeau (genre *Culex*), soit isolément (genres *Aedes* et *Anopheles*), soit encore sur un support végétal immergé (genre *Mansonia*). Les œufs chez les Anophelinés possèdent chacun deux flotteurs latéraux qui les maintiennent à la surface de l'eau (figure 6).

Les larves de Culicinés présentent un tube respiratoire (siphon) qu'elles utilisent aussi pour rester en suspension, en position oblique par rapport à la surface de l'eau ; les larves d'Anophelinés n'ont pas de siphon et sont maintenues parallèlement à la surface de l'eau.

Chez les adultes, on peut distinguer les Culicinés des Anophelinés en observant leur position au repos par rapport au support : les Anophelinés forment un angle de 50° à 90° alors que les Culicinés adoptent une position parallèle au support.

Chez les Anophelinés, les adultes mâles et femelles peuvent aussi être distingués de ceux des Culicinés par la longueur et la forme des palpes : chez les femelles d'Anophelinés, les palpes sont aussi longs que la trompe alors qu'ils sont beaucoup plus courts que la trompe chez

les femelles de Culicinés ; chez les mâles d'Anophelinés, les palpes sont aussi longs que la trompe et renflés au sommet, tandis qu'ils sont plus longs que la trompe, avec un sommet effilé chez les mâles de Culicinés, (Carnevale *et al.*, 2009 ; OMS, 2014).





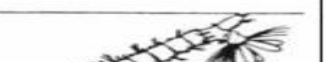







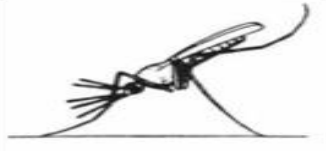


	<i>ANOPHELINAE</i>		<i>CULICINAE</i>	
	<i>ANOPHELES</i>		<i>AEDES</i>	<i>CULEX</i>
Œufs				
Larves				
Têtes	 	 	 	
Position au repos				

Figure 6 : Particularités morphologiques des principaux genres de Culicidés d'intérêt médical (Lane & Crosskey, 1993).

I.1.4 Biologie des Culicidés

Les Culicidés sont des insectes holométaboles car ils ont un cycle de vie qui comporte une métamorphose complète. Leur cycle de développement comprend une phase aquatique (comprenant les stades œuf, larvaire et nymphal) et une phase aérienne (stade adulte) (Carnevale *et al.*, 2009) (figure 7). Le temps que prend chaque stade pour son développement dépend des paramètres environnementaux tels que la température de l'eau et de la disponibilité en nourriture (OMS, 2003).

I.1.2.1 Phase aquatique

Cette phase débute avec la ponte des œufs d'un moustique femelle à la surface de l'eau. Ces œufs peuvent être déposés dans l'eau des contenants artificiels (genre *Aedes*), dans les collections d'eaux claires et ensoleillées (genre *Anopheles*) ou dans des collections d'eaux chargées de débris organiques (genre *Culex*) (Mouchet *et al.*, 1984 ; Fontenille *et al.*, 2001 ; Fontenille *et al.*, 2003). Le nombre d'œufs varie en fonction des espèces et de la quantité de

sang absorbé ; les femelles peuvent pondre environ 100 à 300 œufs dans le genre *Aedes* (Hawley, 1988), 150 à 400 chez *Anopheles* et 50 à 200 œufs chez *Culex* (Cywinska *et al.*, 2006).

Environ un à deux jours après la ponte, chaque œuf éclot, libère une larve vermiforme et apode qui se nourrit des débris organiques à la surface de l'eau. La larve du stade L1, à croissance discontinue, subit trois mues successives qui aboutiront progressivement aux stades L2, L3 et L4. Parvenue au stade L4, la larve se transforme en une nymphe mobile, apode, en forme de virgule, qui ne se nourrit pas car elle est dépourvue de tube digestif. La durée du stade nymphal est de 2 à 3 jours au bout desquels on aboutit à l'émergence du jeune adulte ou imago (Carnevale *et al.*, 2009).

I.1.2.2 Phase aérienne

L'adulte émerge généralement de la nymphe au crépuscule. Les premiers jours de la vie imaginaire permettent le durcissement du corps, la prise d'aliments sucrés (chez le mâle et la femelle), et la maturation des organes. L'alimentation sucrée procure des substances énergétiques telles que les hydrates de carbone nécessaires pour le déplacement (vol) et l'accouplement (Carnevale *et al.*, 2009). L'accouplement a lieu peu après l'émergence. La femelle ne s'accouple qu'une seule fois pendant toute son existence et reçoit suffisamment de sperme, qui est stocké dans une spermathèque, pour féconder plus tard les œufs de toutes les pontes successives. Après l'accouplement, la femelle doit prendre un repas de sang qui lui fournit les protéines nécessaires à la maturation des œufs (OMS. 2012 : OMS. 2014). En

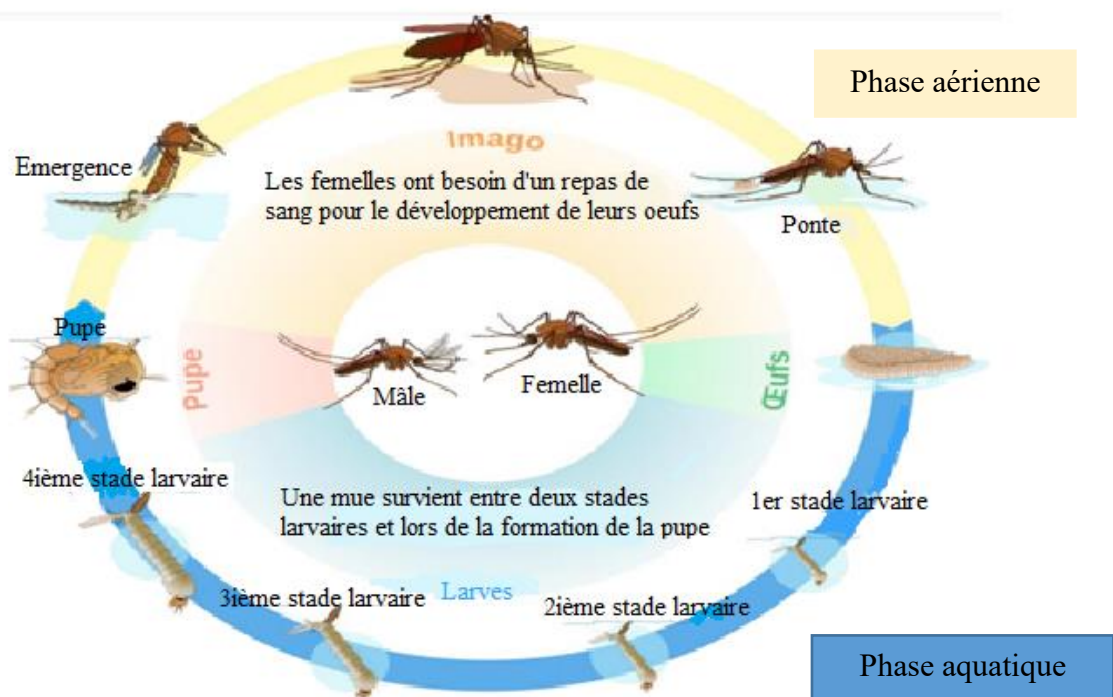


Figure 7 : Cycle de développement des Culicidés (eu biogents.com).

I.2 Généralités sur la transmission du paludisme

L'agent responsable du paludisme est un protozoaire du genre *Plasmodium* Marchiafava 1895. Il est transmis à l'homme lors d'une piqûre du moustique femelle du genre *Anopheles* portant les formes infestantes du parasite. Ce parasite appartient à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des Sporozoea, à la sous-classe des Coccidia, à l'ordre des Euccocida, au sous-ordre des Haemosporina, à la famille des Plasmodiidae. Cinq espèces de *Plasmodium* sont pathogènes pour l'homme : *P. falciparum* Welch, 1897, *P. vivax* Grassi, 1890, *P. ovale* Stephens, 1922, *P. malariae* Feletti, 1889 et *P. knowlesi* Sinton, 1932. Cependant, *P. falciparum* est l'espèce la plus virulente à cause de ses formes d'accès graves ; c'est aussi l'espèce la plus répandue dans les zones tropicales et subtropicales (OMS, 2002). Le cycle biologique du *Plasmodium* (figure 8) comporte deux phases.

I.2.1 Phase asexuée chez l'hôte vertébré (hôte intermédiaire)

Le moustique transmet le paludisme à l'homme en lui injectant des formes infestantes du parasite (sporozoïtes) mélangées à sa salive, au cours de son repas de sang (1). Ces parasites sont ensuite entraînés par le courant sanguin jusqu'au foie où ils pénètrent et se multiplient activement dans les hépatocytes (2, 3), les faisant éclater (4). Les schizontes ainsi libérés vont parasiter une nouvelle cellule hépatique (cycle exo-érythrocytaire) ou pénétrer dans les hématies (cycle érythrocytaire) (5). Dans les hématies, les parasites se multiplient de nouveau dans une vacuole parasitophore dans laquelle ils passent par plusieurs stades : jeune trophozoïte (stade anneau), trophozoïte mature et finalement schizonte ou mérozoïte (OMS, 2014). Cette multiplication aboutit à l'éclatement des hématies infestées avec libération des mérozoïtes (6). Certains mérozoïtes libérés vont envahir de nouvelles hématies, répétant ainsi le cycle érythrocytaire ; d'autres vont évoluer vers des formes sexuées appelées gamétocytes mâles et femelles (7). Ces derniers seront plus tard absorbés par l'anophèle femelle au cours de son repas de sang (8), marquant le début d'un nouveau cycle de reproduction sexuée du *Plasmodium* (Matile, 1978).

I.2.2 Phase sexuée chez l'anophèle femelle (hôte définitif)

En prenant un repas de sang sur un hôte vertébré (homme ou animal) porteur de formes sexuées du *Plasmodium* (gamétocytes), le moustique ingère les gamétocytes. Ce sang ingéré s'accumule dans l'estomac du moustique où les hématies infectées éclatent, libérant les gamétocytes (haploïdes). A ce niveau, le gamétocyte mâle se différencie par exflagellation en 8 microgamètes flagellés qui se déplacent pour féconder le macrogamète femelle et donner un zygote diploïde (9). Le zygote se transforme en ookinète mobile (10) puis pénètre dans la paroi

de l'estomac du moustique et se développe en oocyste sphérique (11). À l'intérieur de l'oocyste, le noyau se divise plusieurs fois formant un grand nombre de sporozoïtes haploïdes qui sont libérés ensuite dans l'hémolymphe (11 et 12). Certains de ces sporozoïtes mobiles vont ensuite migrer dans les glandes salivaires du moustique pour être inoculés à un autre sujet lors de son prochain repas sanguin (OMS, 2014).

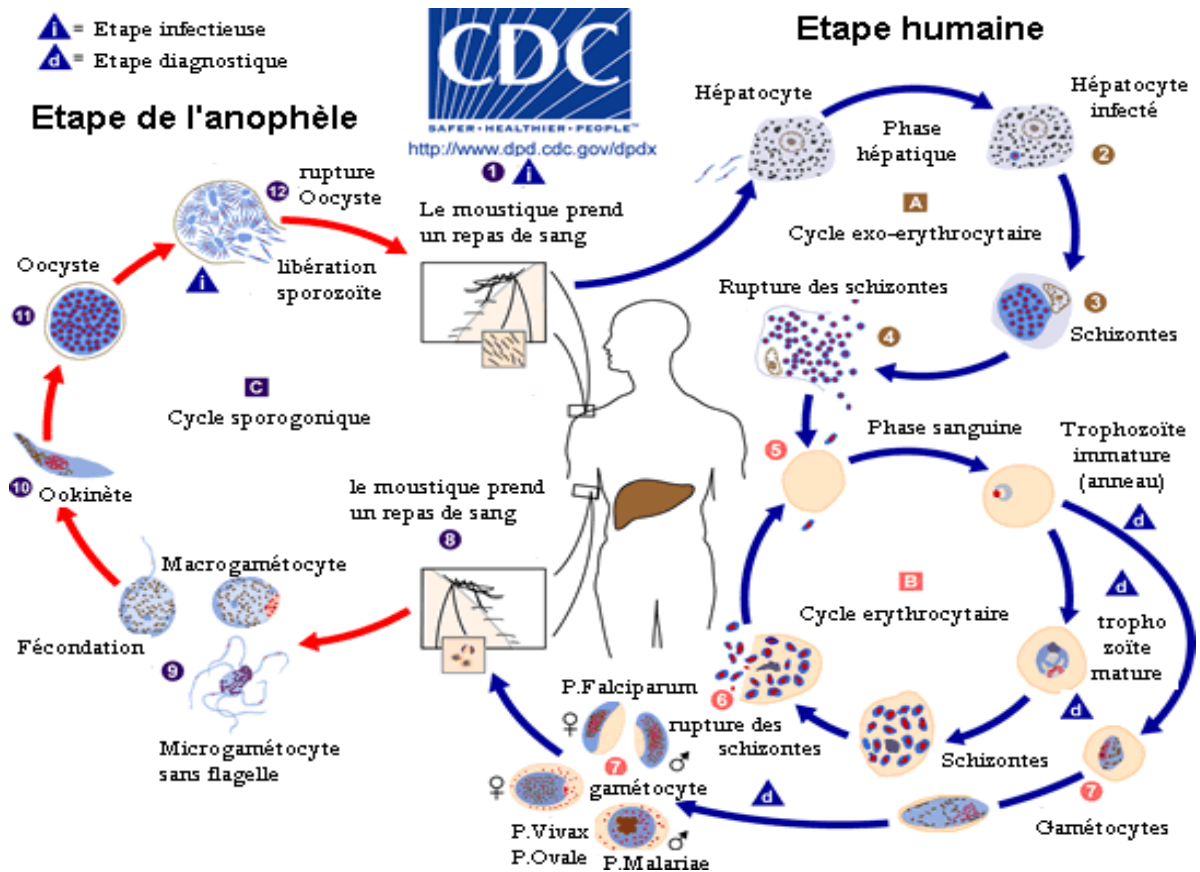


Figure 8 : Cycle de développement du *Plasmodium* (OMS, 2003).

I.2.3 Faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun

L'épidémiologie du paludisme au Cameroun se caractérise par l'existence de trois principaux faciès épidémiologiques retrouvés en Afrique (figure 9), à savoir :

- le faciès sahélien, correspondant à l'Extrême Nord ; qui est caractérisé par une transmission saisonnière courte qui dure un à trois mois. La transmission dans ce faciès est principalement assurée par *A. pharoensis*, *A. rufipes*, *A. arabiensis* et *A. funestus* ;

- le faciès soudano-sahélien qui couvre les régions de l'Adamaoua et du Nord. Il est caractérisé par une transmission saisonnière longue de 6 à 9 mois. La transmission du paludisme y est intense pendant la saison pluvieuse qui dure 5 à 6 mois et est principalement assurée par *A. arabiensis* ;

-le faciès équatorial qui couvre toute la zone forestière et les savanes humides des régions méridionales. La transmission du paludisme est continue tout au long de l'année avec des pics au début et à la fin de la saison des pluies. Cette transmission est principalement assurée par *A. gambiae*, *A. funestus*, *A. moucheti* et *A. nili* (Same Ekobo, 2005 ; PSNLP, 2019).

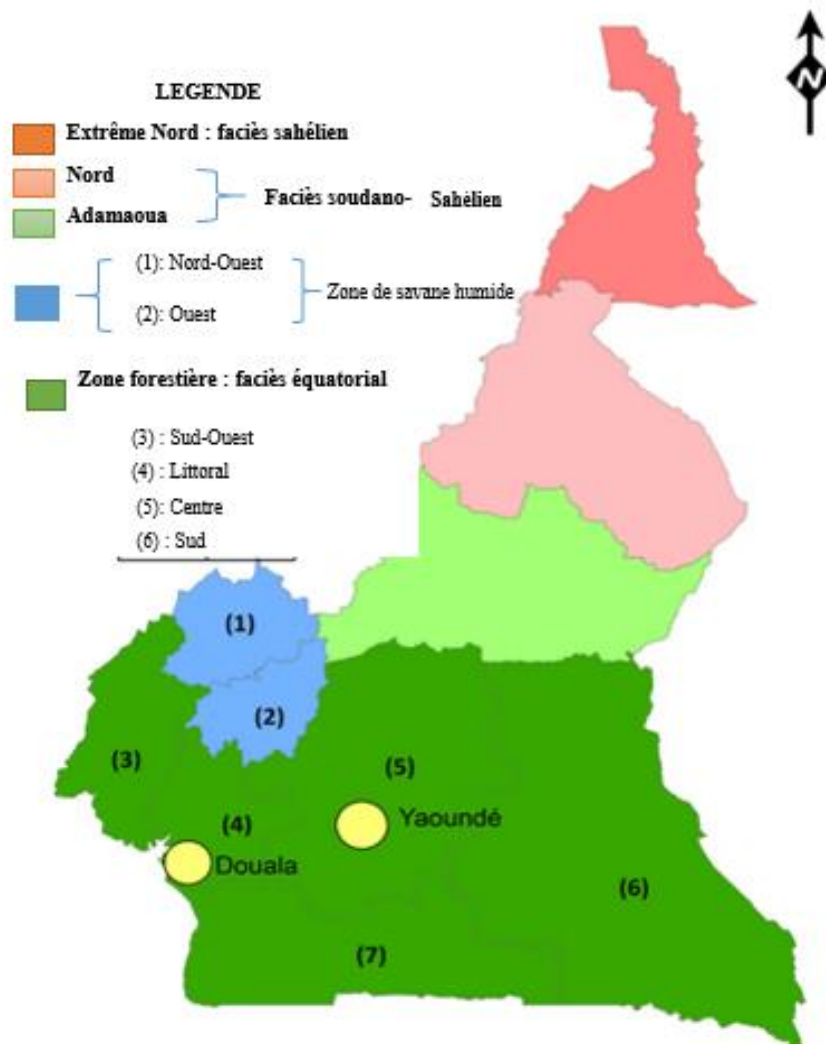


Figure 9 : Faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun (Antonio *et al.*, 2019).

I.2.4 Lutte contre le paludisme

La lutte contre le paludisme repose sur deux piliers : la lutte contre les parasites et la lutte contre les vecteurs.

I.2.4.1 Lutte contre les parasites

Plusieurs molécules antipaludiques peuvent être utilisées comme moyens prophylactiques ou thérapeutiques. Au Cameroun, les moyens prophylactiques reposent sur la chimio-prévention qui englobe :

-le Traitement Préventif Intermittent (TPI) à l'association Sulfadoxine/Pyriméthamine (SP) chez la femme enceinte (Minsanté, 2019), la chimio-prévention chez les enfants de 03 à 59

mois (Chimio-Prévention Saisonnier – CPS) et la chimio-prophylaxie chez les sujets neufs ou voyageurs provenant des pays non endémiques (Minsanté, 2019) ;

-les moyens curatifs quant à eux reposent sur l'utilisation des combinaisons thérapeutiques à base de dérivés d'Artémisinine (ACT). Ces molécules sont administrées aux patients diagnostiqués positifs au paludisme selon qu'il soit simple ou grave. Dans les formations sanitaires, la prise en charge des cas est gratuite pour les enfants de moins de 5ans (Minsanté, 2019). Les médicaments antipaludiques ne garantissant pas une protection absolue contre l'infection, il est important de se protéger des piqûres de moustiques, d'où la nécessité d'associer la lutte anti-vectorielle à la lutte antiparasitaire.

I.2.4.2 Lutte anti-vectorielle

La lutte anti-vectorielle regroupe l'ensemble des mesures qui permettent de réduire ou d'interrompre la transmission d'une maladie en agissant sur ses vecteurs (OMS, 2006). On distingue quatre principales méthodes de lutte contre les vecteurs d'agents pathogènes : la lutte physique, la lutte chimique, la lutte biologique et la lutte génétique. Pour la lutte contre les vecteurs du paludisme, deux principales interventions sont préconisées : les aspersions d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations et l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (PSNLP, 2019). Ces interventions peuvent être complétées localement par d'autres méthodes telles que la lutte anti-larvaire ou l'aménagement de l'environnement.

I.2.4.2.1 Méthodes physiques

Elles sont principalement basées sur l'assainissement, l'aménagement de l'environnement (drainage des eaux, réduction du nombre des gîtes larvaires...) mais aussi l'utilisation des barrières mécaniques (grilles ou grillages) sur les ouvertures des habitations (portes, fenêtres, trous d'aération ...) (OMS, 2014).

I.2.4.2.2 Méthodes chimiques

Elles sont les plus utilisées par la majorité des programmes de lutte contre le paludisme. Ces méthodes englobent la pulvérisation d'insecticides dans les gîtes larvaires, les aspersions intra-domiciliaires d'insecticides à effet rémanent et l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (OMS, 2008). Les insecticides utilisés appartiennent à plusieurs familles, à savoir : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes (Philogene, 1991).

I.2.4.2.3 Méthodes biologiques

Elles regroupent l'utilisation des poissons larvivores dans les gîtes larvaires, des agents entomo-pathogènes, en particulier les spores des bactéries (*Bacillus thurigiensis* et *Bacillus sphaericus*), et les spores des champignons telles que *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* (Scholte *et al.*, 2003 ; Scholte *et al.*, 2005).

I.2.4.2.4 Méthodes génétiques

Elles reposent sur l'utilisation des mâles stériles et des moustiques transgéniques qui sont produits au laboratoire. Le transgène introduit chez la femelle la rend réfractaire au développement du *Plasmodium*. Les mâles stériles relâchés dans la nature s'accouplent avec les femelles sauvages pour produire des descendants à faible compétence vectorielle (Collins, 1994 ; Benedict *et al.*, 2003 ; Boëte, 2006).

CHAPITRE II : CADRE GEOGRAPHIQUE MATERIEL ET METHODES

II.1 Cadre géographique et période d'étude

La localité de Pouth-Kéllé ($3^{\circ}84667N$; $10^{\circ}812061E$; 232 m d'altitude) est située au Cameroun, Région du Centre, Département du Nyong et Kéllé et Arrondissement d'Eséka (figure 10). Elle est située à 130 km de la ville de Yaoundé sur la route nationale N°3, qui relie cette dernière à la ville de Douala. Le site de Pouth-Kéllé se trouve à une dizaine de kilomètres de la localité de Boumnyébel par la route bitumée le reliant à la ville d'Eséka. Les stades adultes d'insectes appartenant à la famille des Culicidés y ont été échantillonnés pendant six mois : de février à juillet 2021.

La localité de Pouth-Kéllé est située en zone de forêt dense humide semi-caducifoliée guinéo-congolaise (PCD, 2008). Elle est soumise à un climat équatorial avec deux saisons sèches (décembre-février et juillet-août) et deux saisons de pluies (septembre-novembre et mars-juin) (PCD, 2008 ; Suchel, 1987). Les sols sont du type ferrallitique et argilo-sablonneux avec une couleur qui varie du brun au rouge (PCD, 2008). La localité est irriguée principalement par la rivière « Kéllé », elle-même alimentée de part et d'autre par de ruisseaux favorables au développement des moustiques. La population locale est constituée à 95% des Bassa qui sont autochtones. Les habitations, pour la plupart, sont du type traditionnel, avec des murs faits en terre battue. L'agriculture est la principale activité économique qui assure à 80% l'essentiel des revenus de la population (PCD, 2008).

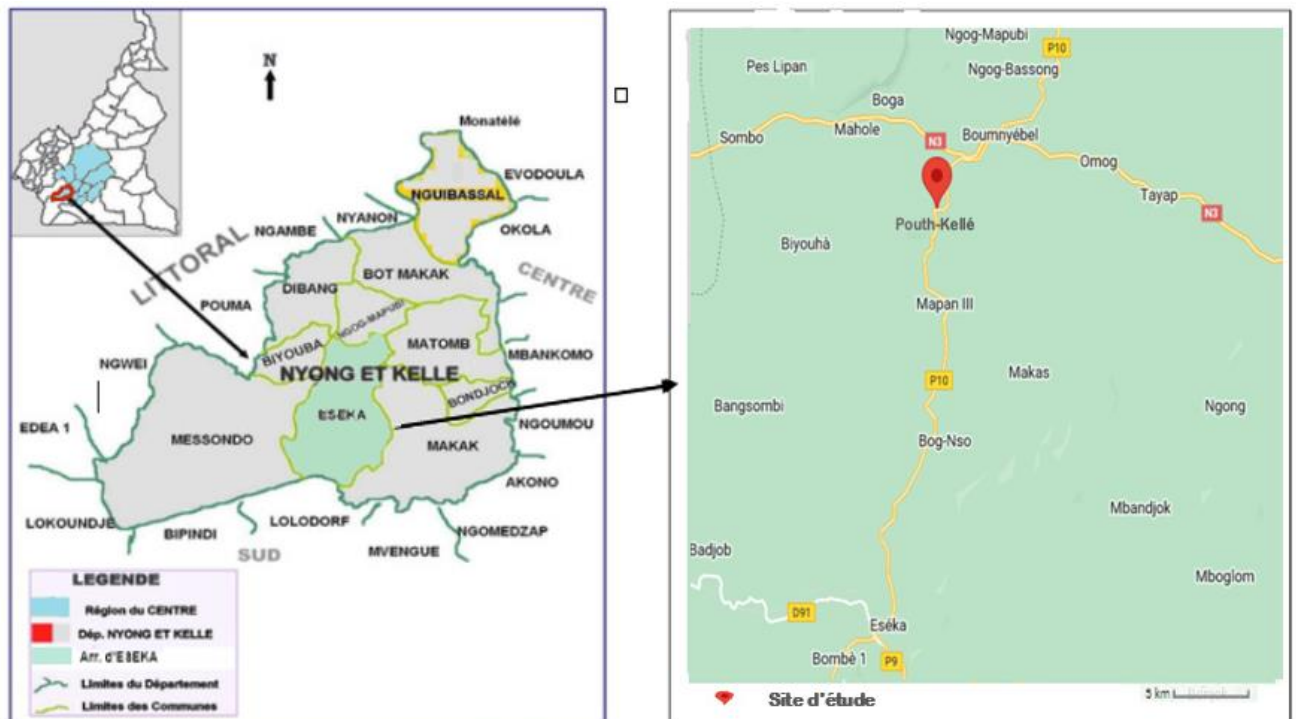


Figure 10 : Localisation géographique de Pouth-Kéllé (ANOM ; Google map).

II.2 Matériel

L'ensemble du matériel utilisé dans le cadre de cette étude sera cité dans la partie ci-après consacrée aux méthodes.

II.3 Méthodes

II.3.1 Collecte des données

Pendant la période de collecte, des enquêtes entomologiques mensuelles ont été effectuées sur le terrain, suivies des analyses moléculaires en vue d'atteindre les objectifs que nous nous sommes fixés.

II.3.1.1 Enquêtes entomologiques

Les enquêtes entomologiques ont nécessité une phase préparatoire et des sessions mensuelles de capture d'insectes.

La phase préparatoire de la collecte des données sur le terrain a commencé par le choix des maisons où les captures mensuelles ont été effectuées puis le recrutement et la formation des volontaires à la capture.

En effet, trois maisons ont été choisies au hasard de façon à représenter tout le village. Après des échanges avec l'équipe de recherche, les occupants de ces maisons ont été informés de l'activité à mener et ont donné leur accord pour sa réalisation selon le chronogramme proposé. Un recrutement des volontaires (captureurs de moustiques) a ensuite été opéré au cours d'une réunion organisée en présence du chef de la communauté. Au cours de cette réunion, la note d'information sur la participation à l'étude a été expliquée et les formulaires de consentement éclairé ont été portés à l'attention des participants. Au total, 20 membres volontaires de la communauté ont donné leur accord pour participer à la collecte des données dont 3 chefs de ménages et 17 autres membres de la communauté.

Après avoir donné leur consentement et signé la fiche qui avait été remise à chacun, une séance de formation sur la capture des moustiques a immédiatement commencé par la présentation et l'utilisation du matériel de capture suivi d'une simulation de la capture. Le test d'aptitude à cet exercice a été effectué par les volontaires dans leurs domiciles respectifs. Les résultats obtenus par chaque volontaire nous ont permis de constituer les équipes devant conduire cette activité. Chaque équipe travaillant dans une maison était constituée de quatre captureurs : deux travaillant de 18h à 24h et deux autres de 24h à 06h du matin (avec un captureur à l'intérieur et l'autre à l'extérieur de la maison). Les captures ont été effectuées chaque mois pendant 2 nuits consécutives entre 18h et 06h du matin par 12 captureurs. Un

traitement à base de la Maloxine, à titre préventif contre le paludisme a été administré à chaque captureur avant le début de chaque session de capture.

L'échantillonnage des moustiques a été réalisé par la méthode standard de l'OMS : la capture nocturne par les volontaires soumis à une prophylaxie (OMS, 2002). Les moustiques ont été capturés sur les jambes dénudées à l'aide des tubes à hémolyse et d'une lampe torche (figure 11). Les collectes de chaque maison de capture ont été groupées par tranches de deux heures dans des sacs numérotés. Afin d'éviter tout éventuel biais lié à l'aptitude à la capture des captureurs, ces derniers étaient permutés (suivant les positions intérieur / extérieur des maisons) après chaque deux heures. Au terme d'une nuit de capture, les moustiques collectés étaient récupérés pour une identification morphologique.



Figure 11 : Photographie d'un volontaire humain en pleine séance de capture à l'extérieur de la maison.

II.3.1.2 Identification morphologique des moustiques adultes

Les moustiques collectés ont été morphologiquement identifiés sous une loupe binoculaire de marque NIKON (figure 12) et sur la base des clés d'identification morphologique proposées par Edwards (1941), Cordeliers & Geoffroy (1976) pour les Culicinsés, Gillies & De Meillon (1968), Gillies & Coetzee (1987) pour les Anophelinés.

Les anophèles femelles identifiés étaient conservés individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml contenant un dessiccateur (gel de silice) couvert avec du coton. Chaque échantillon ainsi constitué a été codifié et conservé dans une boîte de rangement. Les informations sur le nombre de moustiques de chaque espèce identifiée en fonction du lieu de collecte et des tranches horaires de capture ont été consignées dans une fiche de collecte de données, et plus tard insérées dans une base de données du logiciel Excel pour des analyses

ultérieures. Les moustiques identifiés ont été ensuite transportés au laboratoire et conservés dans un congélateur à -20°C.



Figure 12 : Dépouillement et identification morphologique des moustiques.

II.3.1.3 Analyses de laboratoire

Au laboratoire, les anophèles conservés à -20°C ont été disséqués individuellement et scindés en deux parties : une partie contenant la tête et le thorax et une autre partie constituée des carcasses (pattes, ailes et abdomen). Chaque partie a été introduite dans un nouveau tube Eppendorf stérile portant le code du moustique puis conservée à -20°C. Les carcasses ont servi à l'identification moléculaire des espèces du complexe *A. gambiae*, la tête et le thorax à la recherche de l'infection à *P. falciparum*. Les analyses moléculaires se sont déroulées au laboratoire de recherche sur le paludisme de l'OCEAC.

II.3.1.3.1 Identification moléculaire des espèces du complexe *A. gambiae*

L'identification moléculaire des espèces du complexe *A. gambiae* a été réalisée avec les extraits d'ADN de 133 spécimens, à l'aide de la technique de *Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

II.3.1.3.1.1 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN a été faite au cétyle-triméthyle ammonium bromide (CTAB) à 2% selon le protocole de Collins *et al* (1987).

Les carcasses de moustiques contenues dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml ont été broyées dans 200µL de CTAB à 2 % puis chauffées à 65°C pendant cinq minutes ; 200µL de chloroforme ont été ajoutés à ce mélange et la solution a été remuée par inversion. Ce mélange a été centrifugé à 12000 trs/min (rpm) pendant cinq minutes à température ambiante (TA). Le surnageant a été prélevé et introduit dans un nouveau tube Eppendorf stérile codifié, dans lequel 200µL d'Isopropanol ont été ajoutés. Le contenu du tube a été mélangé par inversion, centrifugé

de nouveau à 12000 trs/min pendant quinze minutes, et laissé à TA pour précipiter l'ADN au fond du tube sous forme d'un culot peu visible. L'Isopropanol a été vidé et le tube a été soigneusement égoutté ; 200µL d'Ethanol à 70% y ont été ajoutés et le mélange a été centrifugé à 12000 trs/min pendant cinq minutes à TA pour purifier l'ADN obtenu. L'Ethanol a été vidé et le culot séché pendant cinq minutes au minimum au speed-vac. L'ADN ainsi extrait a été reconstitué dans 20µL d'eau stérile puis incubé à 55°C pendant cinq minutes. La solution a été mélangée au vortex puis stockée à -20°C.

II.3.1.3.1.2 Amplification de l'ADN

L'amplification de l'ADN a été faite par la technique PCR « *Polymerase Chain Reaction* » à partir d'amorces spécifiques (Fanello *et al.*, 2002). Cette réaction se déroule en 35 cycles comprenant chacun trois étapes : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation. Cette technique a été utilisée en vue de discriminer les espèces du complexe *A. gambiae*.

II.3.1.3.1.3 Principe de la PCR

La PCR est basée sur une réplique de l'ADN double brin faite en trois étapes :

- la dénaturation qui consiste à une séparation des 2 brins de l'ADN sous l'effet d'une température comprise entre 92°C et 95°C pendant 3 minutes ;
- l'hybridation au cours de laquelle les oligonucléotides se fixent en 30 secondes aux extrémités 3' et 5' de la séquence complémentaire de l'ADN cible. La température d'hybridation dépend de la séquence et du nombre de nucléotides des amorces ; elle varie entre 50°C et 65°C ;
- l'élongation au cours de laquelle chaque amorce fixée sur l'un des 2 brins d'ADN s'étend dans le sens 3'→5', par juxtaposition des nucléotides (dNTPs) sous l'action de l'ADN polymérase. Elle se déroule à une température de 72°C qui permet à l'ADN polymérase thermostable (*Thermus aquaticus* ou Taq) de synthétiser les brins complémentaires, à partir des amorces oligonucléotidiques en présence des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) correspondant aux quatre bases. Ceci permet de doubler la séquence d'ADN cible. Cette étape dure entre 30 secondes et 2 minutes puis un nouveau cycle recommence.

Ces trois étapes peuvent être répétées un grand nombre de fois selon la quantité d'ADN de départ, ce qui aboutit à la multiplication exponentielle de l'ADN cible par 2^n : c'est l'amplification.

II.3.1.3.1.4 Mode opératoire

L'amplification de l'ADN ribosomal a été réalisée selon la technique de la PCR dont la composition du milieu réactionnel est présentée dans le tableau II. Toutes les réactions d'amplification se sont déroulées dans un thermocycleur de marque « 2720 Thermal Cycler »

(Applied Biosystems) (figure 13), dont les cycles de températures sont présentés dans la figure 14. L'ADN amplifié a alors été soumis à une digestion enzymatique pour dissocier les différentes espèces en présence et les révéler par la suite par migration électrophorétique.

Tableau II : Composition du milieu réactionnel d'une PCR pour l'identification des espèces du complexe *A. gambiae* (Fanello *et al.*, 2002)

Réactifs	Concentration finale	Pour 1 réaction à 25µl
ddH ₂ O	-	17.4µL
Tampon de Taq 10X	1X	2.5µL
25mM MgCl ₂	0.5Mm	0.5µL
10mM dNTP each	0.2Mm	0.5µL
Amorce UN (10µM)	5pmoles	0.5µL
Amorce AG (10µM)	5pmoles	0.5µL
Amorce AA (10µM)	5pmoles	0.5µL
Amorce AM (10µM)	5pmoles	0.5µL
Taq DNA Poly (5U/µL)	0.5U	0.1µL
DNA Template (1 à 5ng/µL)	-	2.0µL
Total	-	25,0µL

ddH₂O : eau bidistillée, **dNTP** : désoxyribonucléotides triphosphates, **MgCl₂** : chlorure de magnésium, **UN** : universelle, **AG** : *Anopheles gambiae*, **AA** : *Anopheles arabiensis*, **AM** : *Anopheles melas*, **Taq** : *Thermus aquaticus*, **DNA** : acide désoxyribonucleique, **mM** : millimolaire, **µL** : microlitre, **U** : unité.

Les amorces utilisées sont définies de manière suivante :

- UN : 5'GTGTGCCGCTTCCTCGATGT 3' ;
- AG : 5'CTGGTTTGGTCGGCACGTTT3' ;
- AA : 5'AAGTGTCCTTCTCCATCCTA 3' ;
- AM : 5'GTGACCAACCCACTCCTTGA 3'.



Plaque contenant les échantillons d'ADN à amplifier
Thermocycleur

Figure 13 : Photographie de l'étape d'amplification de l'ADN dans un Thermocycleur.

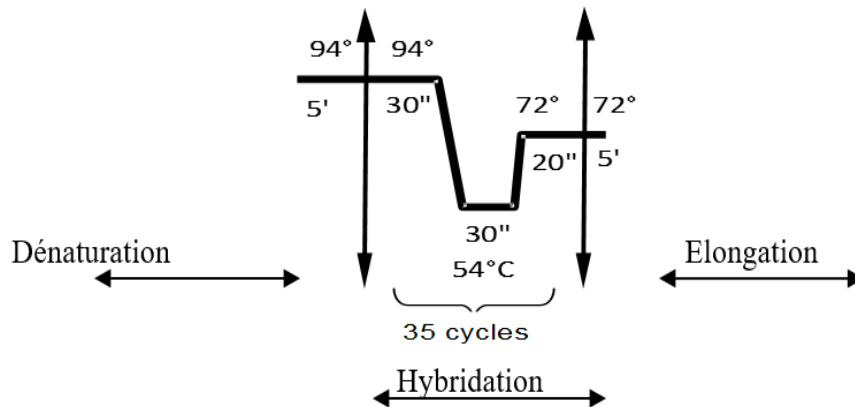


Figure 14 : Différentes étapes et cycles de températures d'une PCR pour l'identification des espèces du complexe *A. gambiae* (Fanello *et al.*, 2002).

II.3.1.3.1.5 Digestion enzymatique

La digestion enzymatique a été réalisée par la technique de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). En effet, les fragments d'ADN amplifiés ont été digérés à l'aide de l'enzyme HhaI (*Haemophilus haemoliticus*), qui les coupe au niveau de leurs sites de restriction. La composition du milieu réactionnel préparé pour la digestion enzymatique est présentée dans le tableau III. Les échantillons soumis à la digestion ont été incubés à 37°C toute la nuit.

Tableau III : Composition du milieu réactionnel d'une digestion enzymatique spécifique des membres du complexe *A. gambiae* (Fanello *et al.*, 2002)

Réactifs	Concentration finale	Pour 1 réaction à 25µl
Tampon d'enzyme 10X	1X	2.5µl
Enzyme HhaI	2.5U	0.25µl
BSA	-	0.25µl
ddH ₂ O	-	12µl
Produit de PCR	-	10µl
Total	-	25µl

HhaI : *Haemophilus haemoliticus*, **BSA :** bovine serum albumin, **ddH₂O :** eau bidistillée, **U:** unité, **µl :** microlitre.

II.3.1.3.1.6 Migration électrophorétique

La migration a été faite sur un gel d'agarose à 2%. A l'aide d'une balance, 2g d'agarose ont été prélevés et introduits dans un Erlenmeyer contenant 100ml de tampon TBE 1X. Le mélange a été homogénéisé et porté à ébullition dans un four micro-onde chauffant à 250°C, jusqu'à l'obtention d'une solution translucide. La solution a été refroidie dans un récipient contenant de l'eau de robinet. A l'état tiède, 5µl de bromure d'éthidium (BET) ont été ajoutés à la solution puis agitée manuellement. Le moule a été préparé et les peignes y ont été suspendus. Le gel a été coulé et mis en attente pour refroidissement. Les peignes ont été retirés

du gel et le bac portant le gel a été immergé dans le bac électrophorétique contenant du TBE 1X.

A l'aide d'une micropipette, des gouttes de 2µl de bleu de charge ont été déposées sur un morceau de para-film ; 8µl de chaque échantillon d'ADN digéré ont été mélangés au bleu de charge. Le mélange a été prélevé à l'aide d'une micropipette et introduit dans les puits du gel. A ces échantillons ont été ajoutés 2 témoins positifs (celui d'*A. gambiae*, et d'*A. coluzzii*), un témoin négatif (eau de PCR) et 2µl de marqueur de taille de 100 pb (paire de bases). Le bac électrophorétique a été soumis à un champ électrique de 140 volts et 220V pendant 1 heure pour la migration.

II.3.1.3.1.7 Lecture et interprétation du gel

Après la migration électrophorétique, le gel a été placé dans un trans-illuminateur connecté à un ordinateur pour la visualisation des bandes matérialisant le front de migration de l'ADN à partir de la fluorescence des molécules de bromure d'éthidium fixés sur les fragments d'ADN. Grâce au logiciel de capture d'images (*Vision Cap*), une photographie du gel a été réalisée et interprétée (figure 15). Selon Fanello *et al* (2002), le profil des bandes attendues pour chaque espèce après la digestion se présente de la manière suivante :

- *A. gambiae* présente une première bande à 110 paires de bases et une seconde bande à 257 paires de bases ;
- *A. coluzzii* montre une bande à 367 paires de bases.

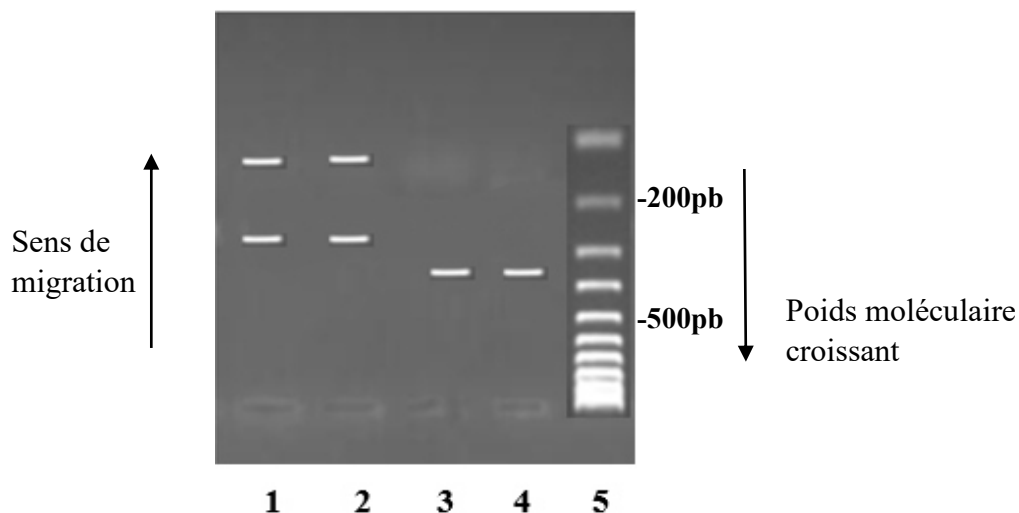


Figure 15 : Photographie d'un gel d'agarose après migration électrophorétique de quatre produits de PCR pour l'identification moléculaire des espèces du complexe *A. gambiae*.

Les bandes représentent l'ADN et suivant leur poids moléculaire, les bandes d'ADN ont des positions différentes sur le gel, ce qui permet d'identifier précisément chaque espèce ; 1 et 2 = *A. gambiae* qui migre à 110 pb et à 257 pb ; 3 et 4 = *A. coluzzii* qui migre à 367 pb ; 5 = marqueur de taille 100 paires de base.

II.3.1.3.2 Détection des anophèles infectés de *P. falciparum*

L'infection des anophèles femelles par *P. falciparum* a été mise en évidence par la technique ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*). Cette technique permet de détecter la protéine CircumSporozoïtique du sporozoïte (CSP) ; ce dernier est souvent logé dans les glandes salivaires des anophèles femelles. La technique ELISA a été mise au point suivant le protocole de Burkot *et al* (1984) amélioré par Wirtz *et al* (1987) et adapté par Fontenille (2002).

Cette technique consiste à coupler la protéine CSP aux anticorps de capture anti-CSP préalablement fixés sur la paroi d'une plaque MAXISORP. Le complexe antigène-anticorps formé est ensuite révélé par un anticorps monoclonal (ACm) anti-CSP couplé à la peroxydase. L'adjonction d'un substrat, qui sera dégradé sous l'action de l'enzyme, produit une coloration visible et mesurable par densité optique. Dans le cadre de notre étude, les densités optiques n'ont pas été mesurées. Nous nous sommes limités à la coloration visible des échantillons qui contenaient la protéine recherchée.

Les différents tampons et réactifs nécessaires à la réalisation du test d'ELISA-CSP ont été préparés suivant les recommandations du fabricant. Les tubes contenant la tête et le thorax de chaque anophèle à tester ont été rangés sur un portoir ayant la même configuration que la plaque d'ELISA. Le contenu de chaque tube a ensuite été broyé dans 20µl de Np-40 (Nonidetp-40) et 200µl de tampon de broyage (Blockind Buffer (BB)) pour faciliter l'extraction des protéines circumsporozoïtiques. Le broyat a ensuite été conservé au congélateur à -20°C. Les plaques d'ELISA ont été sensibilisées en introduisant dans chaque puits de la plaque 50µL de la solution diluée d'ACm de capture (15µL d'ACm reconstitué dans 5mL de PBS (Phosphate Buffer Saline)) à l'aide d'une pipette et incubés pendant toute la nuit à 4°C dans un réfrigérateur. Cette incubation permet l'adsorption de l'ACm sur les parois de la plaque. Les plaques ont été vidées et sans les laver, 200µL de BB ont été ajoutés dans chaque puits pour saturer les sites de fixation des ACm et les plaques ont été laissées une heure sur la paillasse. Elles ont été vidées par la suite puis 50µL du broyat d'anophèle ont été introduits dans chaque puits de la plaque en dehors des puits des témoins positif et négatif, qui ont reçu 50µL des solutions respectives. Les plaques ont été couvertes et laissées deux heures sur la paillasse. Les ACm conjugués couplés à la peroxydase ont été préparés environ 10 minutes avant la fin des deux heures, en diluant 7,5µL d'ACm conjugués dans 5mL de BB. Les plaques ont été ensuite vidées, lavées deux fois au PBS /Tween 20 et séchées après chaque lavage ; ensuite, 50µL de la solution d'ACm conjugué correspondant à l'ACm de capture ont été ajoutés dans chaque puits de la plaque et laissées une heure sur la paillasse. Au terme de cette période d'incubation, les plaques ont été vidées, puis lavées quatre fois au PBS/Tween 20 et séchées après chaque lavage. Dans chaque puits,

100µL du substrat ont été ajoutés, et les plaques ont été incubées 30 minutes à l'obscurité. Au bout de ces 30 minutes, les puits positifs ont été colorés en bleu, réaction caractéristique de la dégradation du substrat sous l'action de la peroxydase. Cette réaction a été stoppée en ajoutant 50µl d'acide sulfurique 4N par puits, transformant ainsi la coloration bleue en jaune. Tous les échantillons positifs ont été testés de nouveau pour confirmation. Les données obtenues au cours de cette analyse ont permis d'estimer l'indice sporozoïtique (qui représente la proportion de moustiques d'une espèce donnée, porteurs de sporozoïtes) et le taux d'inoculation entomologique des espèces d'anophèles (qui est le nombre de piqûres infectantes reçues par homme et par nuit) (OMS, 2012).

II.3.2 Analyses statistiques des données

Les données recueillies sur le terrain et au laboratoire ont permis de déterminer les paramètres suivants :

-le taux d'agressivité ou taux de piqûres (ma) : il s'obtient en divisant le nombre d'anophèles capturés par le nombre de captureurs par nuit, d'après la formule suivante :

$$ma = \frac{\text{Nombre total d'anopheles capturés}}{\text{Nombre de captureurs}}$$

Il s'exprime en nombre de piqûres par homme par nuit (p/h/n) (OMS, 2012) ;

-le taux ou indice d'endophagie (I_E): il s'obtient à partir des estimations des taux d'agressivité calculés à l'intérieur et extérieur des maisons, d'après la formule suivante :

I_E =taux d'agressivité intérieur d'une espèce donnée [ma(i)] ÷ [taux d'agressivité intérieur d'une espèce donnée [ma(i)] + taux d'agressivité extérieur d'une espèce donnée [ma(o)]]

Soit :

$$I_E = ma(i) \div [ma(i) + ma(o)]$$

Ils permettent de connaître le statut du moustique en rapport avec son lieu d'alimentation (endo/exophage) (OMS, 2012) ;

-le taux d'infectivité ou indice sporozoïtique : il est déterminé à partir de la formule suivante :

$$\text{Taux d'infectivité} = \frac{\text{Nombre de moustiques positifs}}{\text{Nombre total de moustiques analysés}}$$

(OMS, 2012)

-le taux d'inoculation entomologique : il est déterminé par la formule suivante :

$$EIR = [\text{taux d'agressivité (ma)}] \times [\text{taux d'infectivité}]$$

(OMS, 2012) 25

II.3.2.1 Tests de comparaison

Les données collectées ont été saisies dans Excel office professionnel version 2013 et analysées avec le logiciel SPSS version 26. Les pourcentages et les effectifs des moustiques ont été calculés dans le tableur Excel. Les graphiques montrant la composition de la faune culicidienne et l'agressivité mensuelle des espèces anophéliennes, ainsi que les courbes d'agressivité et du taux d'inoculation des espèces anophéliennes, ont été générés à partir d'Excel. Pour chaque espèce anophélienne, le test de chi 2 a été utilisé pour comparer chaque paramètre calculé (l'agressivité, l'indice sporozoïtique et le taux d'inoculation entomologique) entre l'intérieur et l'extérieur des maisons à un seuil de significativité de 5%.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Résultats

III.1.1 Composition et abondance de la faune culicidienne

Au total 1027 moustiques ont été capturés au cours des 6 enquêtes entomologiques mensuelles que nous avons menées dans notre site d'étude. L'étude morphologique des spécimens capturés a permis de classer les moustiques de notre échantillon en deux sous-familles : la sous famille des Anophelinae (N=756) représentant 73,6% [IC : 70,9%-76,3% !] et la sous-famille des Culicinae (N=271) représentant 26,4% [IC : 23,7%-29,1%] de la faune. La sous-famille des Anophelinae était constituée uniquement du genre *Anopheles* (100%) tandis que celle des Culicinae était constituée des genres *Aedes*, *Culex* et *Mansonia* à des proportions respectives de 11,7% (N=120), 14,6% (N=150) et 0,1% (N=1) (figure 16).

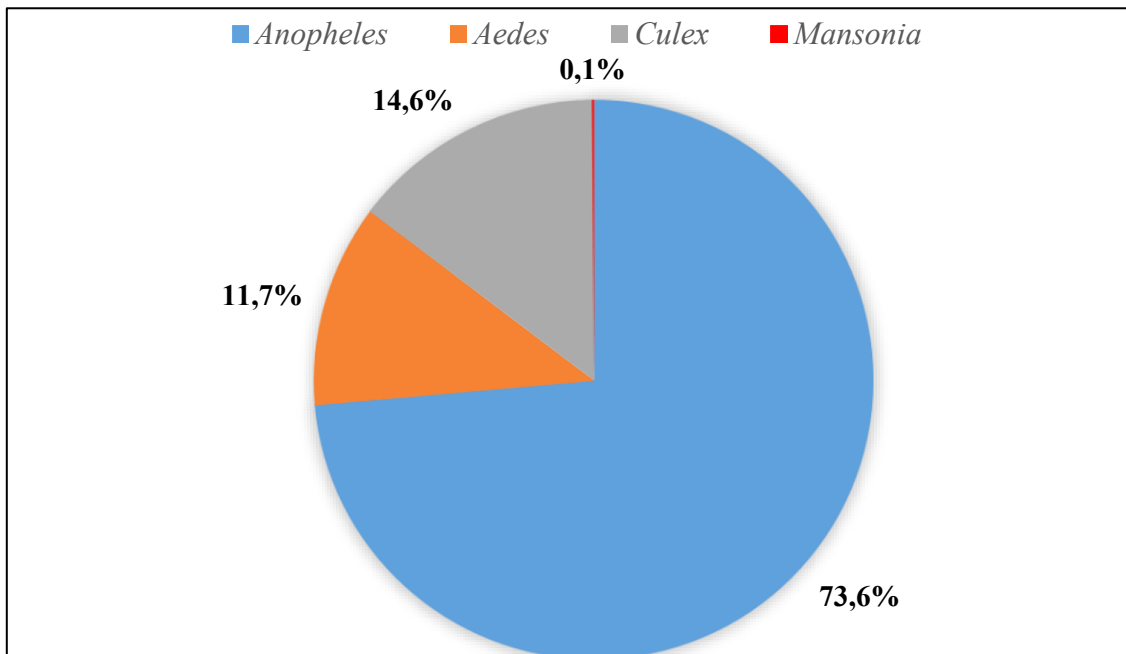


Figure 16 : Répartition par genre des moustiques capturés entre février et juillet 2021 à Pouth-Kélé.

La distribution mensuelle des genres de moustiques capturés est donnée à la figure 17. Dans l'ensemble, les spécimens appartenant à la sous-famille des Anophelinae ont été majoritaires pendant les 6 mois de notre échantillonnage. Au niveau mensuel, les spécimens du genre *Anopheles* ont été plus collectés pendant les mois de Février (95,9%), Mars (95,1%) et Mai (91,8%), alors que ceux des Culicinae ont été plus collectés aux mois d'Avril (genre *Aedes* : 47,6%) et juillet (genre *Culex* : 97,6%).

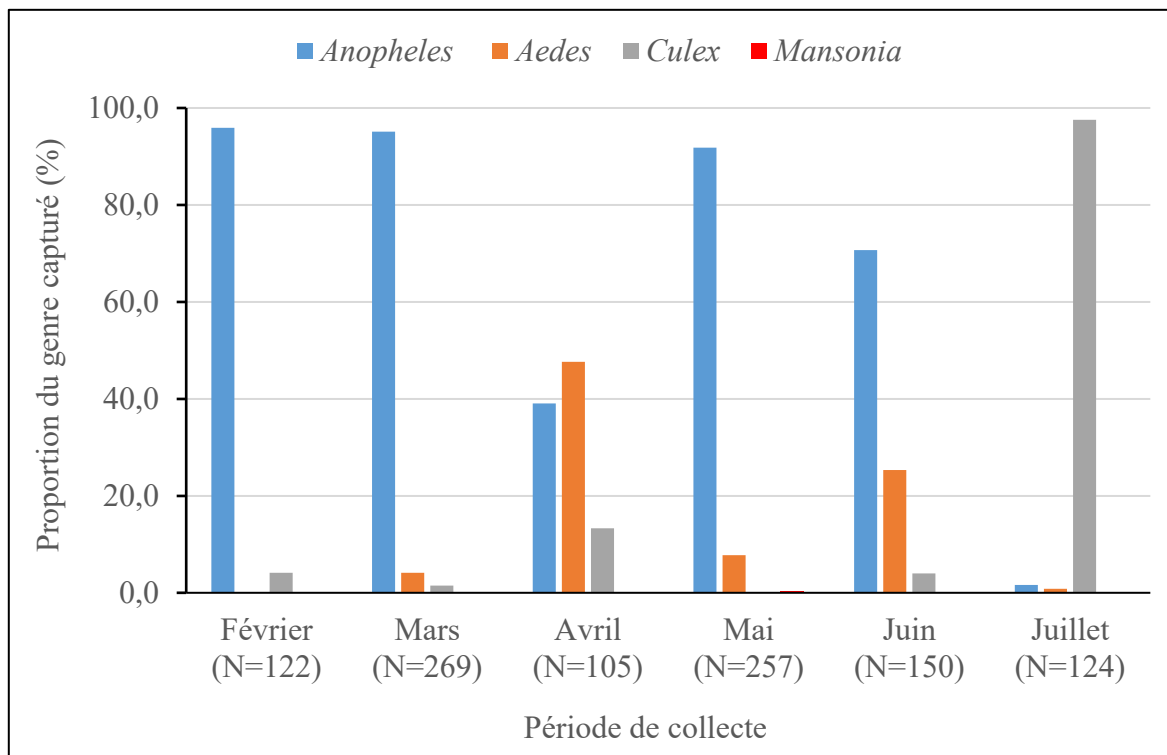


Figure 17 : Abondance mensuelle de la faune culicidienne échantillonnée entre février et juillet 2021.

III.1.1.1 Composition spécifique de la faune anophélienne

Au cours de cette étude, 756 anophèles femelles ont été collectés ; leur identification morphologique a révélé la présence de 4 espèces qui sont : *A. gambiae* s.l. (64,3% ; N=486), *A. nili* (20,4% ; N=154), *A. funestus* (15,2% ; N=115) et *A. paludis* (0,1% ; N=1) (Figure 18).

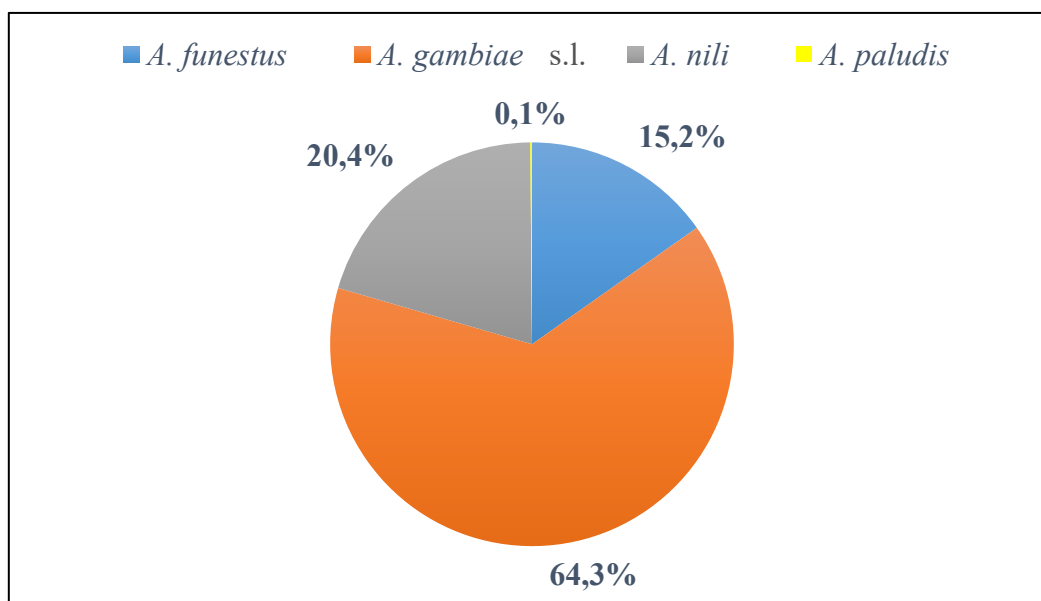


Figure 18 : Composition spécifique de la faune anophélienne échantillonnée entre février à juillet 2021.

Sur les 486 *A. gambiae* s.l. capturés, 27% (N=133) ont été soumis aux analyses moléculaires pour l'identification des espèces du complexe *A. gambiae*. Les résultats obtenus ont révélé la présence d'*A. gambiae* s.s. (97,7%, N=130) comme espèce majoritaire, et d'*A. coluzzii* (2,3%, N=3) comme espèce minoritaire (figure 19).

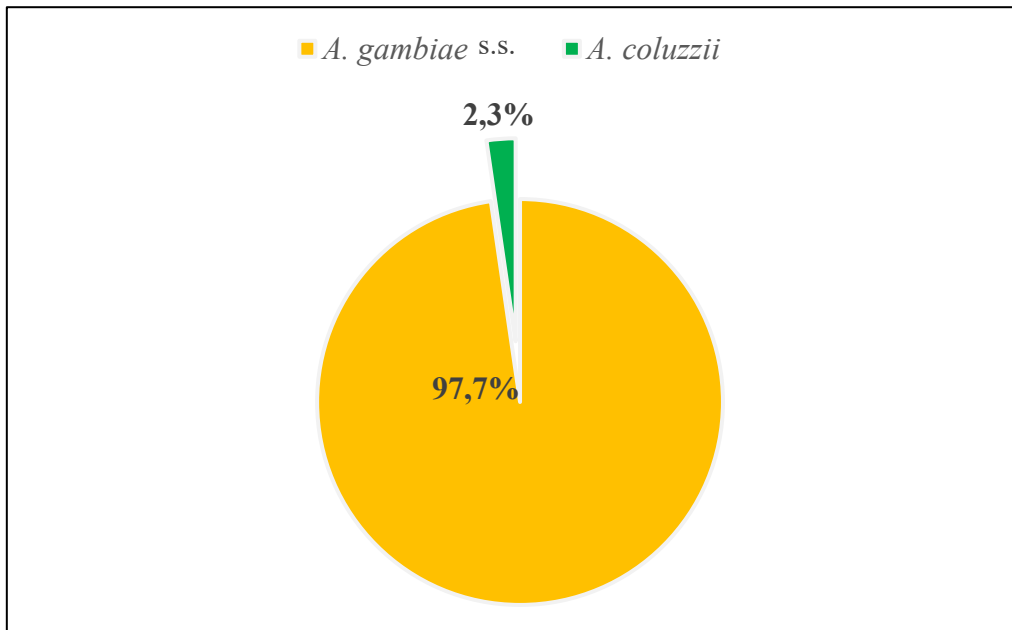


Figure 19 : Répartition des espèces du complexe *A. gambiae* dans le site d'étude entre février à juillet 2021.

III.1.2 Agressivité de la faune anophélienne

L'agressivité de la faune anophélienne a été étudiée entre 18h et 6h du matin à l'extérieur et à l'intérieur des maisons. Sur les 756 anophèles obtenus, 373 ont été collectés à l'intérieur et 383 à l'extérieur des maisons. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les taux d'anophèles collectés à l'intérieur et à l'extérieur des maisons ($p=0,232$).

III.1.2.1 Agressivité horaire à l'intérieur et à l'extérieur des maisons

En raison du faible effectif d'*A. paludis*, l'étude de l'agressivité a été faite uniquement pour *A. gambiae* s.l., *A. funestus* et *A. nili*. Les dynamiques d'agressivité de ces espèces anophéliennes à l'intérieur et à l'extérieur sont représentées respectivement aux figures 20 et 21. Dans l'ensemble, les profils d'agressivité des trois espèces, à l'intérieur et à l'extérieur des maisons ont été semblables.

A l'intérieur des maisons (figure 20), l'agressivité d'*A. gambiae* s.l. a été croissante avec un pic entre 24h-02h ; pour diminuer légèrement avant de croître à nouveau entre 04h-06h.

Chez *A. nili*, l'agressivité a été maximale entre 22h-24h et pour diminuer progressivement jusqu'à 06h. Chez *A. funestus* le pic d'agressivité a été observé entre 24h-02h. Entre 04h-06h, l'agressivité de *A. gambiae* s.l. et *A. funestus* n'est pas nulle et tend à augmenter ; ce qui suggère que ces 2 espèces pourraient continuer de piquer après 06h à l'intérieur des maisons.

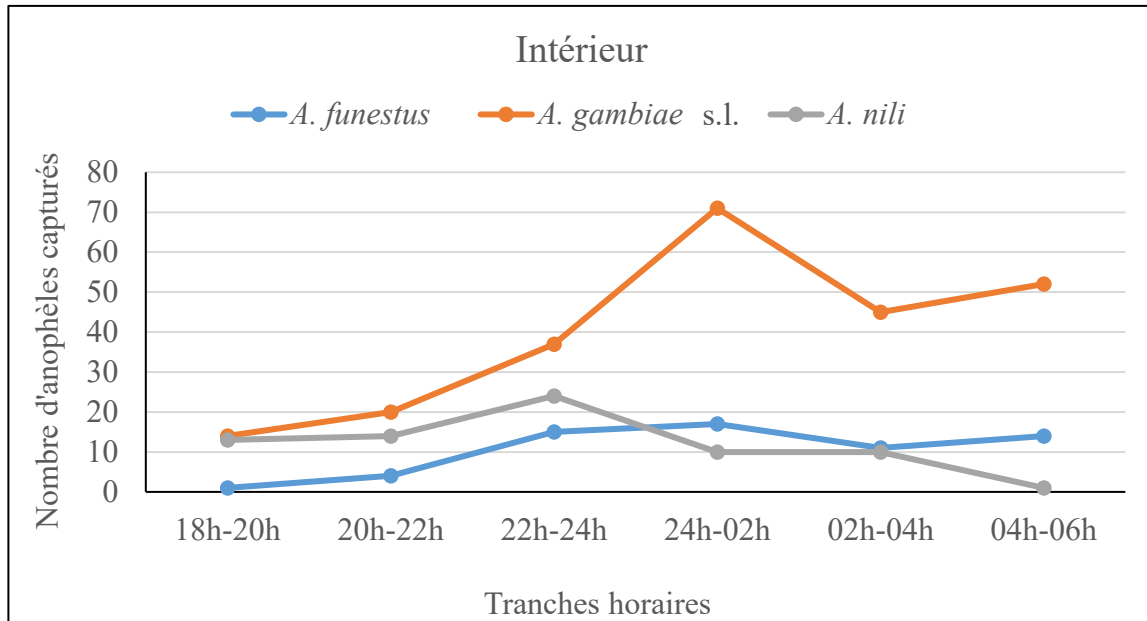


Figure 20 : Dynamique d'agressivité horaire des espèces anophéliennes à l'intérieur des maisons.

A l'extérieur des maisons (figure 21), l'agressivité d'*A. gambiae* s.l. a été croissante atteignant son pic entre 02h-04h ; puis cette activité a diminué jusqu'à 06h sans toutefois s'annuler. Chez *A. nili*, le pic d'agressivité a été enregistré entre 20h-22h pour décroître entre 04h-06h. Chez *A. funestus*, l'agressivité a augmenté progressivement pour atteindre son pic entre 24h-02h, puis a diminué entre 04h-06h sans s'annuler. Entre 04h-06h, l'agressivité de *A. gambiae* s.l. et *A. funestus* n'est pas nulle mais tend à s'annuler.

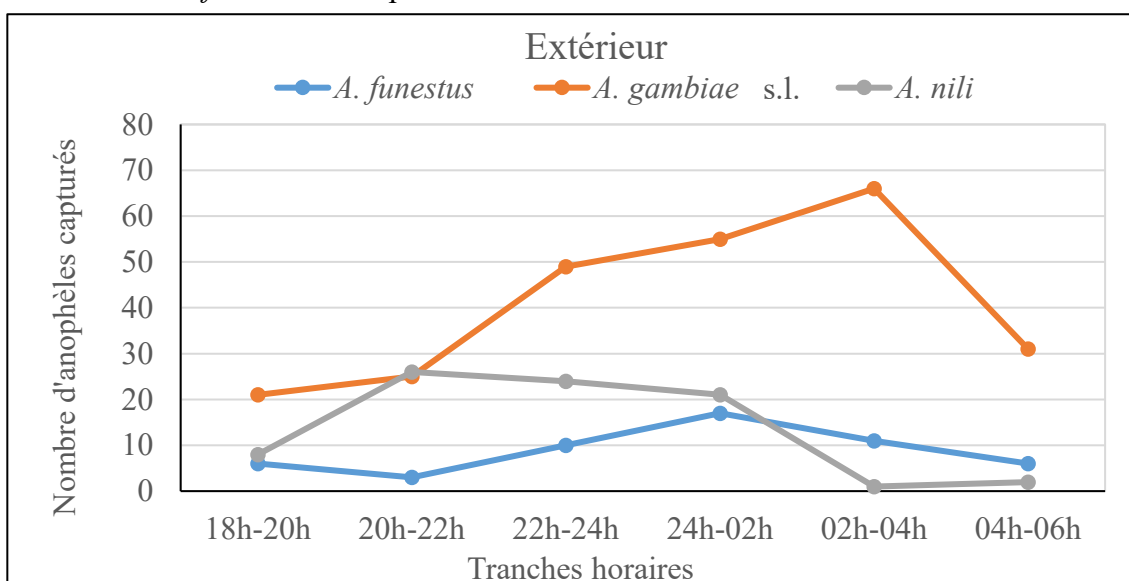


Figure 21 : Dynamique d'agressivité horaire des espèces anophéliennes à l'extérieur des maisons

III.1.2.2 Agressivité mensuelle

Chacune des trois espèces anophéliennes capturées a montré une dynamique spécifique et différente des autres au cours des 6 enquêtes entomologiques que nous avons effectuées dans notre site d'étude. *Anopheles gambiae* s.l. a été capturé pendant les six mois de l'étude avec une agressivité plus prononcée au mois de mai. *Anopheles nili* et *A. funestus* par contre se sont montrés plus agressifs au mois de mars. Entre février, mars et avril, l'agressivité a été assurée par *A. gambiae* s.l., *A. funestus* et *A. nili*, alors que de mai à juillet, elle a été principalement assurée par *A. gambiae* s.l. avec cependant une faible contribution d'*A. funestus* en mai et juin (figure 22).

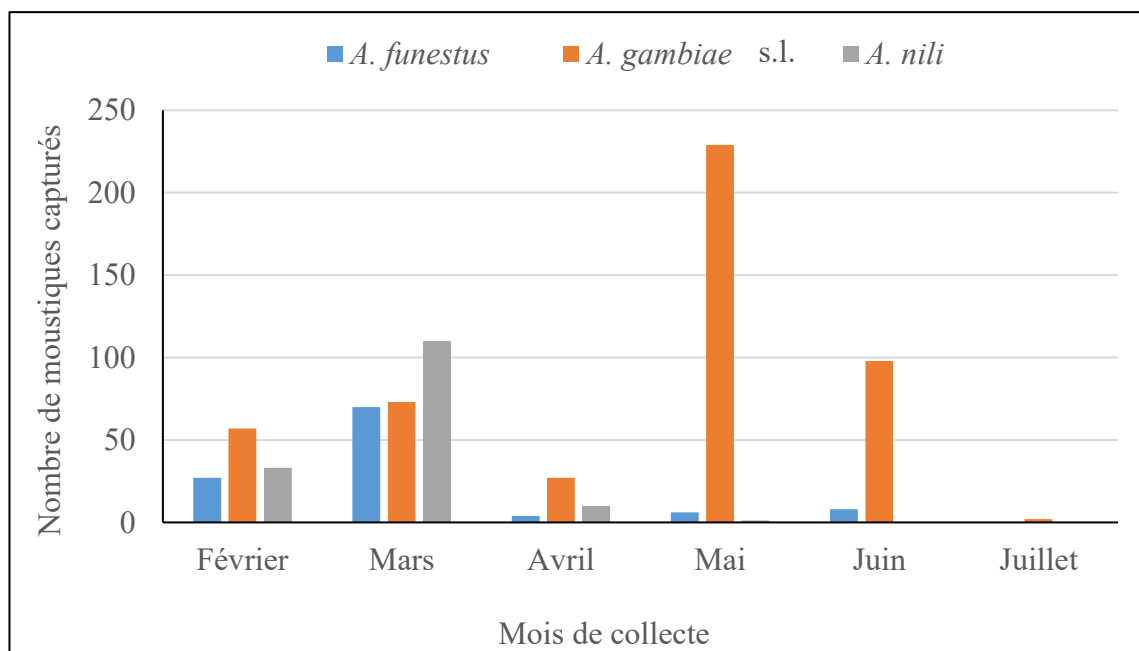


Figure 22 : Dynamique d'agressivité mensuelle des espèces anophéliennes de février à juillet 2021.

III.1.2.3 Taux d'agressivité par espèce et taux d'endophagie

Les taux d'agressivité et d'endophagie déterminés pour chaque espèce sont présentés dans le tableau IV. Dans l'ensemble, la faune anophélienne a été autant agressive à l'extérieur (10,6 piqûres par homme et par nuit (p/h/n)) qu'à l'intérieur (10,4 p/h/n) des maisons. Les taux d'agressivité enregistrés pour chacune des trois espèces anophéliennes capturées ont été par contre statistiquement différents entre l'extérieur et à l'intérieur des maisons ($X^2=305,508$; ddl=1 ; $P < 0,001$). Les taux les plus élevés ont été obtenus avec *A. gambiae* s.l. soit 6,9 p/h/n à l'extérieur et 6,6 p/h/n à l'intérieur des maisons. Pour *A. nili* et *A. funestus*, ces taux ont été de 2 p/h/n et 1,7 p/h/n à l'intérieur mais de 2,3 p/h/n et 1,5 p/h/n à l'extérieur respectivement. Ces données traduisent un comportement tant endophage qu'exophage pour ces trois espèces illustrées par des taux d'endophagie ; 53,6% (N=62) d'*A. funestus* ont été capturés à l'intérieur

des maisons avec en moyenne 1,7 p/h/nuit. Contrairement aux deux autres espèces, *A. funestus* serait plutôt plus endophage qu'exophage à Pouth-Kéllé.

Tableau IV : Agressivité des espèces anophéliennes exprimée en nombre de piqûre reçue par homme par nuit

Espèces d'anophèles	Intérieur			Extérieur			Indice d'endophagie (%)	p-value
	N (%)	captu- reurs	ma	N (%)	captu- -reurs	ma		
<i>A. funestus</i>	62 (53,9)	36	1,7	53 (46,1)	36	1,5	53,6	<0,001
<i>A. gambiae</i> s.l.	239 (49,2)	36	6,6	247 (50,8)	36	6,9	48,9	<0,001
<i>A. nili</i>	72 (46,8)	36	2	82 (53,2)	36	2,3	46,7	<0,001
Totaux	373	36	10,4	382	36	10,6	49,5	<0,001

ma : taux d'agressivité exprimé en nombre de piqûres par homme par nuit ; **p-value** : probabilité du test de chi 2 issue de la comparaison entre le taux d'agressivité à l'intérieur et à l'extérieur des maisons au sein de chaque espèce.

III.1.3 Indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme

III.1.3.1 Infection à *P. falciparum* chez les espèces d'anophèles femelles capturées

La recherche de la protéine « CircumSporozoïtique » réalisée sur 755 anophèles a révélé que 54 anophèles étaient positifs, soit un taux d'infection de 7,2%. Parmi ces positifs, 33 ont été collectés à l'intérieur et 21 à l'extérieur des maisons pour des taux d'infection de 8,9% et 5,5% respectivement. Les détails sur les échantillons analysés par espèce, le nombre de moustiques positifs ainsi que le lieu de capture (intérieur et extérieur des maisons) sont donnés au tableau V. *Plasmodium falciparum* a été identifié chez les trois espèces de moustiques ; la prévalence la plus élevée a été enregistrée chez *A. gambiae* s.l. (8,8%) suivie par *A. funestus* (7,8%) et *A. nili* (1,3%). Dans l'ensemble, le taux d'infection de la faune endophage (8,9%) a été supérieur au taux d'infection de la faune exophage (5,5%) ($X^2=3,679$; ddl=1 ; p=0,055). Au sein de chaque espèce, le taux d'infection a été significativement plus élevé à l'intérieur qu'à l'extérieur chez *A. gambiae* s.l. ($X^2=11,409$; ddl=1 ; p=0,001) et comparables pour *A. funestus* ($X^2=0,49$; ddl=1 ; p=0,826) et *A. nili* ($X^2=0,4$; ddl=1 ; p=0,841). L'identification moléculaire des 43 membres du complexe *A. gambiae* s.l. porteurs de la protéine CSP a été privilégiée. Cette identification a révélé la présence de 42 *A. gambiae* s.s. et 01 *A. coluzzii* positifs

Tableau V : Indice sporozoïtique des espèces anophéliennes

Espèces d'anophèles	Total			Intérieur			Extérieur			p-value
	N	P ⁺	I _s (%)	N	P ⁺	I _s (%)	N	P ⁺	I _s (%)	
<i>A. funestus</i>	115	9	7,8	62	5	8,1	53	4	7,5	0,826
<i>A. gambiae</i> s.l.	486	43	8,8	239	27	11,3	247	16	6,5	0,001
<i>A. nili</i>	154	2	1,3	72	1	1,4	82	1	1,2	0,841
Total	755	54	7,2	373	33	8,9	382	21	5,5	0,055

N : effectif total des anophèles analysés ; P⁺ : effectif total des anophèles infectés par *P. falciparum* ; I_s : indice sporozoïtique exprimé en pourcentage ; p-value : probabilité du test de chi 2 issue de la comparaison entre l'indice sporozoïtique intérieur et extérieur des maisons au sein de chaque espèce.

III.1.3.2 Estimation du taux d'inoculation entomologique des espèces anophéliennes

Dans l'ensemble le taux d'inoculation entomologique a été inférieur à une piqûre infectante par homme et par nuit (pi/h/n) durant toute la période d'étude aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des maisons, pour chacune des trois espèces concernées. Il a été de 0,76 pi/h/n pour toute la faune anophélienne et la différence observée sur les valeurs obtenues à l'intérieur (0,93 pi/h/n) et à l'extérieur (0,64 pi/h/n) des maisons était significative ($X^2=7,014$; ddl=1 ; p=0,008) (tableau VI). Les taux d'inoculation entomologique enregistrés pour *A. gambiae* s.l. ont été significativement plus élevés à l'intérieur (0,76 pi/h/n) qu'à l'extérieur (0,45 pi/h/n) des maisons ($X^2=10,782$; ddl=1 ; p=0,001) mais comparables entre *A. funestus* ($X^2=0,215$; ddl=1 ; p=0,643) et *A. nili* ($X^2=0,002$; ddl=1 ; p=0,965). Que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur des maisons, les taux les plus élevés ont été enregistrés avec l'espèce *A. gambiae* s.l., suivie d'*A. funestus* et enfin d'*A. nili*.

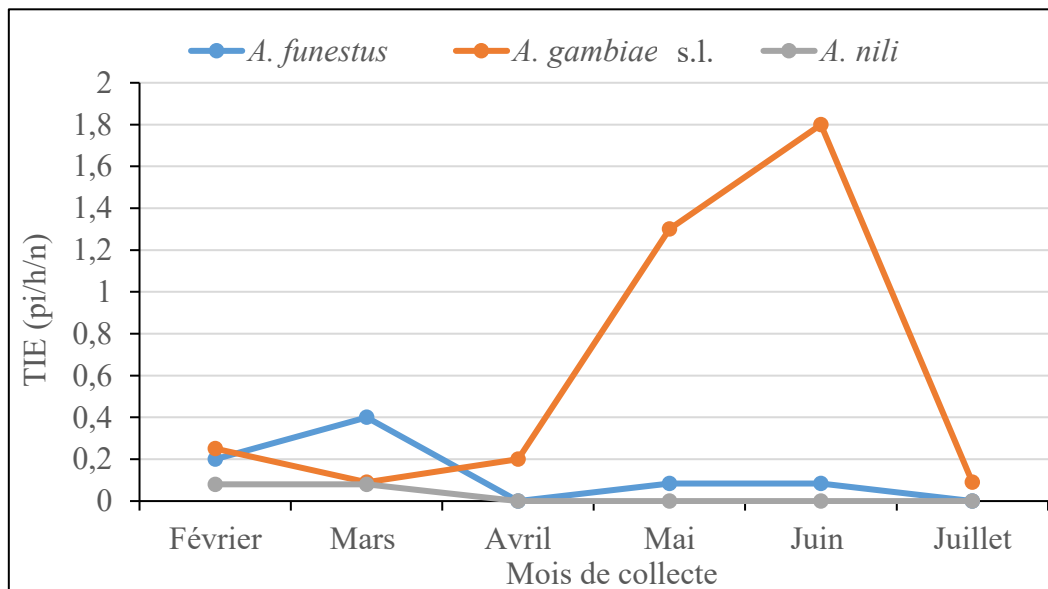
Tableau VI : Taux d'inoculation entomologique des espèces anophéliennes

Espèces d'anophèles	Totaux			Intérieur			Extérieur			p-value
	ma	I _s (%)	TIE	Ma	I _s (%)	TIE	ma	I _s (%)	TIE	
<i>A. funestus</i>	1,6	7,8	0,13	1,7	8,1	0,14	1,5	7,5	0,11	0,643
<i>A. gambiae</i> s.l.	6,8	8,8	0,6	6,6	11,3	0,76	6,9	6,5	0,45	0,001
<i>A. nili</i>	2,1	1,3	0,03	2	1,4	0,03	2,3	1,2	0,03	0,965
Totaux	10,5	7,2	0,76	10,4	8,9	0,93	10,6	5,5	0,64	0,008

ma : taux d'agressivité exprimé en nombre de piqûres par homme par nuit ; I_s : indice sporozoïtique exprimé en pourcentage ; TIE : taux d'inoculation entomologique exprimé en nombre de piqûres infestantes reçues par homme par nuit ; p-value : probabilité du test de chi 2 issue de la comparaison entre le taux d'inoculation entomologique à l'intérieur et à l'extérieur au sein de chaque espèce.

III.1.3.3 Variation mensuelle du TIE des espèces anophéliennes

Les valeurs du taux d'inoculation entomologique, enregistrées suivant les espèces anophéliennes et les mois de capture sont présentés à la figure 23. Pour *A. gambiae* s.l., les mois de mai et juin ont été plus favorables pour l'inoculation du *P. falciparum* tandis que *A. funestus* a été plus infestant au mois de mars. La transmission de *P. falciparum* a été assurée principalement par *A. funestus* entre février et mars puis relayée par *A. gambiae* s.l. entre avril et juillet. La transmission du parasite assurée par *A. nili* n'a été notée que très faiblement en février et mars. La transmission de *P. falciparum* est donc restée pérenne durant toute la période de collecte (février-Juillet) ; elle était assurée de façon permanente par *A. funestus* et *A. gambiae* s.l. mais périodiquement par *A. nili*.



TIE : Taux d'inoculation entomologique exprimé en nombre de pique infectée par homme par nuit

Figure 23 : Variations mensuelles du taux d'inoculation entomologique des espèces anophéliennes à Pouth-Kéllé.

III.2 Discussion

La présente étude, qui s'est déroulée dans la localité de Pouth-Kéllé, avait pour objectif d'étudier la bionomie des moustiques vecteurs de maladies.

Cette étude révèle que la faune culicidienne était dominée à 73,6% par les espèces de la sous-famille des Anophelinae ; ce qui traduit, dans cette localité et pendant cette période, que ce milieu est propice à leur développement. En effet, Pouth-Kéllé est un milieu rural, relativement peu pollué par les déchets domestiques et industriels. Cette caractéristique du milieu offre des conditions favorables à la mise en place des collections d'eau claires et

ensoleillées, propices au développement des larves d'anophèles (Carnevale *et al.*, 2009 ; Kamdem *et al.*, 2012). Alors que les culicidés, préfèrent se développer dans des collections d'eaux plus au moins polluées (Rageau *et al.*, 1952 ; Doby *et al.*, 1959).

Cette faune culicidienne était constituée de quatre genres de moustiques, notamment *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* et *Mansonia* évoqués dans plusieurs études entomologiques réalisées au Cameroun (Carnevale *et al.*, 1992 ; Antonio *et al.*, 2012).

Le faible effectif des spécimens du genre *Culex* enregistré est lié à une faible pollution des gîtes larvaires retrouvés dans notre site d'étude. En réalité, les moustiques du genre *Culex* se développent dans des eaux polluées (eaux d'égouts, des latrines...) ou dans des eaux riches en matières organiques en décomposition (Darriet *et al.*, 2017). Cette caractéristique est propre au milieu urbain où on enregistre des densités importantes de *Culex* (Baldet, 1995).

Les spécimens du genre *Aedes* capturés au cours de cette étude pourraient provenir (1) des récipients abandonnés à l'extérieur des maisons, qui servent à recueillir de l'eau pendant les saisons de pluies, et (2) des petites collections d'eau formées par des boîtes vides, des sachets en plastique retrouvés dans le site d'étude. En effet, les formes larvaires de ce genre colonisent aussi bien les gîtes naturels (trous d'arbres en forêt, les pneus abandonnés...) que les récipients remplis d'eau tels que les fûts, les boîtes de conserves (Rageau *et al.*, 1952).

Un seul spécimen du genre *Mansonia* a été échantillonné. Ce résultat témoigne de la rareté des gîtes spécifiques permettant le développement et la prolifération de ces moustiques. En effet, les formes larvaires de *Mansonia* spp. possèdent un appareil buccal adapté pour prélever de l'oxygène de la végétation submergée pour la respiration (Signère *et al.*, 1971 ; Silver, 2008). Les marécages avec ou sans matières organiques sont de ce fait favorables à ces moustiques dont la quasi-absence dans notre échantillon serait étroitement associée à l'inexistence de telles conditions écologiques dans notre site d'étude.

Les espèces capturées au cours de cette étude, notamment *A. funestus*, *A. gambiae* s.s., *A. coluzzii*, *A. paludis* et *A. nili*, font partie de la soixantaine d'espèces anophéliennes rapportées au Cameroun (Hervy *et al.*, 1998 ; Antonio *et al.*, 2006 ; Ekoko *et al.*, 2019). La présence d'*A. gambiae* s.l., d'*A. paludis* et d'*A. nili* dans notre échantillon est un indicateur d'une faune anophélienne des zones forestières. Ces trois espèces ont été également rapportées dans les travaux antérieurs effectués dans la localité de Nyabessan, en zone forestière de la Région du Sud au Cameroun (Awono-Ambene *et al.*, 2004 ; Mbakop *et al.*, 2019). *Anopheles gambiae* s.l et *A. funestus* sont connus comme cosmopolites (Cavalié & Mouchet, 1961 ; Manga *et al.*, 1992 ; Antonio *et al.*, 2006 ; Ekoko *et al.*, 2019), alors que *A. paludis* et *A. nili* montrent une

répartition locale, avec une préférence pour la zone forestière (Carnevale *et al.*, 1992 ; Kyalo *et al.*, 2017). En effet, *A. nili* est un moustique forestier dont les gîtes larvaires sont des ruisseaux ou des cours d'eau à courant rapide (Hamon *et al.*, 1963) ; sa présence dans notre échantillon serait attribuée au réseau hydrographique local dominé par la Kéllé dont la vitesse d'écoulement des eaux est aussi rapide.

Les proportions d'*A. gambiae* s.s. (97,7%) et d'*A. coluzzii* (2,3%) rapportées dans cette étude sont en accord avec la littérature concernant la répartition géographique des membres du complexe *A. gambiae* (Coetzee *et al.*, 2000). En effet, *A. gambiae* s.s. est plus inféodé aux zones rurales tandis que *A. coluzzii* est plus en zones urbaines (Simard *et al.*, 2009 ; Kamdem *et al.*, 2012).

En terme d'agressivité horaire, celle d'*A. nili* a été plus marquée dans la première moitié de la nuit (18h-24h) tandis que celles d'*A. funestus* et *A. gambiae* s.l. ont été plus importantes de 22h à 06h. Ces observations sont en accord avec les travaux antérieurs rapportés sur les 3 espèces au Cameroun (Fondjo *et al.*, 1992 ; Tanga *et al.*, 2011 ; Akono *et al.*, 2017) , au Burkina Faso (Hamon, 1963) et au Ghana (Tchouassi *et al.*, 2012).

La présente étude, menée pendant six mois entre février et juillet, couvre trois mois de sécheresse (février, mi-mars et juillet) et quatre mois de la petite saison de pluies (mars, avril, mai, et juin) avec des précipitations modérées (Suchel, 1987). Pendant la période sèche qui s'étale entre février et mi-mars, la Kéllé prend l'allure d'un ruisseau dont les eaux concentrées dans le lit mineure forment, par endroits, un courant rapide favorable au développement d'*A. nili* (Hamon, 1963). Quand la Kéllé gonfle, dès le début de la petite saison de pluies (mi-mars et début avril), le débit augmente, ce qui entraîne le lessivage des gîtes larvaires situés en bordure de cette rivière et devient défavorables au développement de ce moustique, ce qui est en accord avec les conclusions de Robert *et al* (1984) sur la fluctuation de densité d'*A. nili*. Selon ces auteurs, la densité maximale d'*A. nili* serait observée pendant la saison sèche, les larves étant emportées par le courant en saison des pluies. Pour les espèces du complexe *A. gambiae*, la petite saison de pluies est propice à la formation des collections d'eau temporaires favorables à leur développement (Akono *et al.*, 2009). *Anopheles gambiae* s.l. et *A. nili* constituent la faune résiduelle qui perdure même en saison sèche et qui reconstituent leurs populations quand les conditions deviennent favorables ; ceci justifie ainsi leur caractère permanent au cours de notre étude. Le faible effectif d'*A. funestus* relevé dans cette étude évoque des conditions spécifiques requises pour son développement ; en effet, les gîtes larvaires de cette espèce se caractérisent par une végétation dressée (Hamon *et al.*, 1963), qui n'est pas un profil courant en zone forestière.

Nos résultats ont montré que *A. coluzzii*, *A. funestus*, *A. gambiae* s.s. et *A. nili* sont les vecteurs du paludisme dans la localité de Pouth-Kéllé. Ils font partie des vecteurs majeurs qui assurent la transmission du paludisme au Cameroun (PNLP, 2018). *Anopheles funestus*, *A. gambiae* s.l. et *A. nili* piquent et peuvent transmettre le paludisme à l'intérieur comme à l'extérieur des maisons à Pouth-Kéllé. Les taux d'endophagie enregistrés, qui varient entre 45% et 55% pour ces trois espèces, dénotent d'une absence de préférence réelle du lieu de piquê vis-à-vis de leur hôte. L'indice sporozoïtique et le taux d'inoculation entomologique enregistrés pour *A. funestus* et *A. nili* traduisent clairement cette situation. Dans notre site d'étude, *A. funestus*, *A. gambiae* s.l. et *A. nili* apparaissent comme des espèces endophages et exophages. Ce caractère reconnu pour ces trois espèces, a déjà été observé dans plusieurs sites au Cameroun (Tanga *et al.*, 2011) et même dans d'autres pays en Afrique (Sherrard *et al.*, 2019). Ce comportement serait, pour ces espèces, une adaptation à la prise optimale du repas de sang chez l'homme en plus également des heures de 'coucher' des habitants ; il entraîne malheureusement une transmission permanente du paludisme dans les zones endémiques. En effet, ces moustiques exophages constituent une fraction importante de la faune anophélienne qui assure la transmission du paludisme à l'extérieur des maisons. Cette faune exophage est non ciblée par les moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA), utilisées par les populations comme principal outil de lutte contre les vecteurs du paludisme au Cameroun. Bien que nos données n'aient été collectées que sur une période de 6 mois, les taux d'agressivité, variant de 1,5 p/h/n à 6,9 p/h/n, et les taux d'inoculation entomologique, compris entre 0,03 pi/h/n et 0,76 pi/h/n, enregistrés pour chacune des espèces à l'intérieur et à l'extérieur traduisent une exposition des populations au paludisme. Toutefois, ces taux sont nettement inférieurs à ceux rapportés dans plusieurs autres études longitudinales menées au Cameroun (Carnevale *et al.*, 1992 ; Akono *et al.*, 2015). La présence de *A. coluzzii*, *A. funestus*, *A. gambiae* s.s. et *A. nili* et leurs rôles dans la transmission du paludisme appellent à une sensibilisation des populations de Pouth-Kéllé à l'utilisation permanente et judicieuse des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA), à la pratique collective des méthodes de lutte physique contre ces vecteurs (drainage des eaux stagnantes, pose des grillages à mailles fines sur les ouvertures des habitations en terre battue....) et l'utilisation des plantes ou produits à effets répulsifs contre les moustiques dont l'efficacité et l'innocuité ont été prouvées pour une protection hors de la MILDA et des habitations.

CONCLUSION, RECOMMANDATIONS
ET PERSPECTIVES

La présente étude a été menée dans le cadre de la mise en œuvre du projet « *Slash and Clear* » qui est une approche de la lutte contre les vecteurs de l'onchocercose (simulies) basée sur la destruction physique des gîtes larvaires dans la rivière Kéllé. Le volet de l'étude que nous avons menée a montré l'existence de 4 genres de moustiques de grande importance médicale, notamment les genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* et *Mansonia*. L'agressivité de ces moustiques à l'extérieur et à l'intérieur des habitations a varié en fonction des espèces et des tranches horaires de la période de capture. La recherche de l'infection à *P. falciparum* a montré que la transmission du paludisme est assurée par *A. gambiae* s.s., *A. coluzzii*, *A. funestus*, *A. nili* et de façon alterne durant la période de notre étude. Pendant que *A. nili* et *A. funestus* assurent une transmission périodique, *A. gambiae* s.l. (*A. coluzzii* et *A. gambiae* s.s.) assure une transmission continue avec des pics caractéristiques pour chaque espèce. Un habitant de Pouth-Kéllé pourrait recevoir en moyenne 0,7 piqûre infectante par nuit, donc 21 piqûres infectantes par mois, et 126 piqûres infectantes de février à juillet. Ces données montrent que le paludisme est endémique dans ce village. La prévention contre cette parasitose repose sur l'utilisation adéquate des outils recommandés par le programme national de lutte contre le paludisme, notamment les moustiquaires imprégnées à longue durée d'action. Pour être plus efficace, la lutte contre le paludisme à Pouth-Kéllé devrait intégrer la sensibilisation des populations à la mise en place des activités de lutte anti-vectorielle au niveau communautaire. Les données de base sur la faune culicidienne dans la localité de Pouth-Kéllé ont été obtenues au cours de la présente étude. Elles devraient être prises en considération pour l'étude des maladies transmises par les moustiques. Ainsi, les programmes nationaux de contrôle du paludisme, de la filariose lymphatique et d'arboviroses bénéficieraient de connaissances supplémentaires sur la diversité des populations de vecteurs de cette localité et leur comportement pour mettre en œuvre les mesures de lutte anti-vectorielle intégrée sur le terrain.

A l'issue de cette étude et au vu des résultats acquis, nous recommandons :

-aux chercheurs

- de mener des études similaires dans d'autres zones rurales du Cameroun en vue d'actualiser les connaissances sur l'épidémiologie des maladies transmises par les moustiques et mieux cibler la lutte anti-vectorielle ;
- d'organiser des séances de restitution des données de la recherche dans les sites d'étude pour mieux sensibiliser les populations ;

-aux Populations :

- ✓ d'utiliser de manière efficace les moustiquaires imprégnées pour la lutte contre le paludisme ;
- ✓ de mettre en place des activités de lutte physique contre les vecteurs (drainage des eaux stagnantes, nettoyage des alentours des habitations, pose des grillages sur les ouvertures des habitations, ;
- ✓ de tenir compte des horaires d'activité des moustiques afin de ne pas s'y exposer.

Toutefois, des études complémentaires, notamment sur le comportement des moustiques et leur sensibilité aux insecticides, sont nécessaires pour mieux orienter le choix des stratégies de lutte contre le paludisme dans notre site d'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adam J.P. (1956). Note faunistique et biologique sur les anophèles de la région de Yaoundé et la transmission du paludisme en zone forestière du sud Cameroun. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **49**, 210-220.

Akono Ntonga P., Bakwo E.M., Belong P., Kekeunou S., Foko G. & Messi J. (2009). Abondance et diversité de la faune culicidienne à Yaoundé, Cameroun. *Entomologie faunistique 2010 (2009)* **62** (3), 115-124.

Akono Ntonga P., A. Mbida, C. Tonga, A. Yomon Kayoum, L. Enga Youmbi & Lehman L.G. (2017). Données préliminaires sur le paludisme humain en zones rurale et sémi-urbaine du département du Nkam (Littoral-Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* **115**: 11441-11452.

Akono Ntonga P., Tonga C., Mbida Mbida J.A., Ngo Hondt O. E., Awono Ambene P., Ndo C., Tamdem Magne G., Peka M. F., Ngaha R. & Lehman L.G. (2015). *Anopheles gambiae*, vecteur majeur du paludisme à Logbessou, zone péri-urbaine de Douala (Cameroun). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **108**:360-368.

ANOM : Archives Nationales d'Outre-Mer. Département du Nyong et Kélé-Osidimbea.

Antonio-Nkondjio C., Defo-Talom B., Tagne-Fotso R., Tene-Fossog B., Ndo C., Lehman L.G., Tchuinkam T., Kengne P. & Awono-Ambene P. (2012). High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala, Cameroon. *BioMed Central Infectious Diseases* **2012**, *12*:275.

Antonio-Nkondjio C., Kerah C., Simard F., Awono-Ambene H., Mouhamadou C., & Tchuinkam T. (2006). Complexity of malaria vectorial system in Cameroon : contribution of secondary vectors to malaria transmission. *Journal of Medical Entomology* **2006**;43:1215–21.

Antonio-Nkondjio C., Ndo Cyrille, Njiokou F., Bigoga J. D., Awono-Ambene P., Etang J., Same Ekobo A. & Wondji C. S. (2019). Review of malaria situation in Cameroon: technical viewpoint on challenges and prospects for disease elimination. *Parasites Vectors* (2019) **12**:501 <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3753-8>.

Awono-Ambéné H. P., Kengne P., Simard F., Antonio-Nkondjio C., & Fontenille D. (2004). Description and Bionomics of *Anopheles* (*Cellia*) *ovengensis* (Diptera: Culicidae), a New

Malaria Vector Species of the *Anopheles nili* Group from South Cameroon. *Journal of Medical Entomology* 41(4): 561-568.

Baldet T. (1995). Etude comparative de deux stratégies de lutte contre *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 par *Bacillus sphaericus* Neide, 1904 dans la ville de Maroua (Nord-Cameroun). Thèse de Doctorat : Université de Montpellier II (France), 294p.

Bamou R., Mayi M.P., Djiappi-Tchamen B., Nana-Ndjangwo S.M., Nchoutpouen E., Antony J.C., Awono-Ambene P., Parola P., Tchuinkam T. & Antonio-Nkondjio C. (2021). An update on the mosquito fauna and mosquito-borne diseases distribution in Cameroon. *Parasites Vectors* (2021) 14:527 <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04950-9>.

Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C., & Kaiser A. (2010). Mosquitoes and Their Control. *Springer Science & Business Media*, 514p. doi : 10.1007/978-3-540-92874-4.

Beker N. (2008). Influence of climate change on mosquito development and mosquito-borne diseases in Europe. *Parasitology Research*, 103(1): p. 19-28.

Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C. & Kaiser A. (2003). Mosquitoes and their control. *London New York: Springer Heidelberg Dordrecht*. 577p.

Benedict Mark Quentin & Robinson A.S. (2003). The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique. *Trends Parasitology* 19: 349–355.

Blanchard R. (1905). Les moustiques : histoire naturelle et médicale. *Paris F.R. de Rudeval, Imprimeur-Editeur 4, rue Antoine Dubois (VI^e)*.

Boëte C. (2006). Genetically Modified Mosquitoes for Malaria Control. *Montpellier (FRA); Georgetown : IRD ; Landes Bioscience*, 174 p. (*Medical Intelligence Unit*). ISBN 1-58706-096-5.

Boussinesq M. (1999). La filariose lymphatique au Cameroun : état des connaissances. *Bulletin de Liaison et de Documentation-OCEAC*, 32(4), p. 7-12.

Burkot T., Williams J. & Schneider I. (1984). Identification of *Plasmodium falciparum*-infected mosquitoes by a double antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 33: 783-788.

- Carnevale P., Le Goff G., Toto J.C. & Robert V. (1992).** *Anopheles nili* as the main human malaria in villages of Southern Cameroun. *Medical and Veterinary Entomology*, 6: 135-138.
- Carnevale, P., Robert V., Manguin S., Corbel V., Fontenille D., Garros C. & Rogier C. (2009).** Les anophèles Biologie, transmission du Plasmodium et lutte anti-vectorielle. *Collection Didactiques, Institut de Recherche pour le Développement éditions 203p.*
- Cavalié P. & Mouchet J. (1961).** Les vecteurs et l'épidémiologie du paludisme dans le nord du Cameroun. *Médecine Tropicale*, 1961, 6, 847-870.
- Coetzee M., Craig M., Le Sueur D. (2000).** Répartition des moustiques africains du paludisme appartenant au complexe *Anopheles gambiae*. *La parasitologie aujourd'hui* 16 (2), 74-77.
- Collins, F.H. & Besansky N.J. (1994).** Vector Biology and the Control of Malaria in Africa. *Science (New York, N.Y.)* 264 (5167): 1874-75.
- Collins F.H., Mendez M.A., Rasmussen M.O., Mehaffey P.C., Besansky N.J. & Finnerty V. (1987).** A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of the *Anopheles gambiae* complex. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene* ; 37: 37-41.
- Cordellier R. & Geoffroy B. (1976).** Les Moustiques de la République Centrafricaine. Distribution, abondance et fréquence des Culicinae dans l'Ouest du pays. Les arbovirus isolés. *Edition O.R.S.T.O.M., Paris, 105p, 1976.*
- Cywinka A., Hunter F.F. & Herbert P.D.N. (2006).** Identifying canadian mosquitoes species through DNA Barcodes. *Medical and Veterinary Entomology*; 63, 413 - 424.
- Darriet F. (2017).** Des moustiques et des hommes : chronique d'une pullulation annoncée. L'histoire naturelle des moustiques et des hommes. *Open Edition Books, P.11-43*
- Demanou M., Antonio-Nkondjio C., Ngapana E., Rousset D., Paupy C., Manuguerra J-C. & Zeller H. (2010).** Chikungunya outbreak in a rural area of Western Cameroon in 2006: a retrospective serological and entomological survey. *BioMed Central Res Notes* ; 3:128.
- Demanou M., Pouillot R., Grandadam M., Boisier P., Kamgang B., Hervé J. P., Paupy C., Rogier C. & Rousset D. (2014).** Evidence of dengue virus transmission and factors associated with the presence of anti-dengue virus antibodies in humans in three major towns in Cameroon. *PLoS Neglected Tropical Diseases* ;8:e2950.

- Doby J-M. & Mouchet J. (1959).** Présence de *Culex philipi* Edwards, 1929, *Culex guiarti* Blanchard, 1905, et de *Culex sitiens* Wiedemann, 1828 au Cameroun. Complément à l'étude écologique des culicidés larvaires dans la région de Yaoundé. *Vie et Milieu, Observatoire Océanologique - Laboratoire Arago*, 1959, 10 (4), pp.417-420. [ffhal-02887004](#).
- Edwards F.W. (1941).** Mosquitoes of the Ethiopian region. Culicinae adults and pupae *Culex* (*Culex*). *British Museum (Natural History), London*, 1-163.
- Ekoko W.E., Awono-Ambene P., Bigoga J., Mandeng S., Piameu M., Toto J.C., Nwane P., Patchoke S., Mbakop L.R., Binyang J.A., Donnelly M., Kleinschmidt I., Knox T., Mbida M.A., Dongmo A., Fondjo E., Mnzava A. & Etang J. (2019).** Patterns of anopheline feeding/resting behaviour and Plasmodium infections in North Cameroon, 2011–2014: implications for malaria control ; *Parasites Vectors* 12:297 <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3552-2>.
- Etang J., Fesuh B.N, Awono-Ambene P., Bigoga J., Ekoko W.E., Piameu M., Toto J.C., Ndong Nguema E.P., Gwet H., Fondjo E. & Mnzava A.P. (2016) :** Resting Behaviour of Deltamethrin-Resistant Malaria Vectors, *Anopheles arabiensis* and *Anopheles coluzzii*, from North Cameroon: Upshots from a Two-Level Ordinary Logit Model ; *Intech open science/open minds*. <http://dx.doi.org/10.5772/65463>.
- Etang J., Mandeng S.E., Nwane P., Awono-Ambene H.P., Bigoga J.D., Ekoko W.E., Binyang A.J., Piameu M., Mbakop L.R., Mvondo N., Tabue R., Mimpfoundi R., Toto J.C., Kleinschmidt I., Knox T.B., Mnzava A.P., Donnelly M.J. & Fondjo E. (2022).** Patterns of Kdr-L995F Allele Emergence Alongside Detoxifying Enzymes Associated with Deltamethrin Resistance in *Anopheles gambiae s.l.* from North Cameroon. *Pathogens*, 11, 253. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020253>.
- Fanello C., Santolamazza F. & Della Torre A. (2002).** Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Medical and Veterinary Entomology* 2002, 16:461–464.
- Fondjo E., Robert V., Le goff, G., Toto J.C. & Carnevale, P. (1992).** Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun). 2- Etude entomologique dans deux quartiers peu urbanisés. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 85: 57-63.
- Fontenille D., Cohuet, A., Awono-Ambéné P., Antonio-Nkondjio C., Wondji C., Kengne P., Dia I., Boccolini D., Duchemin J.B., Rajaonarivelo V., Dabire R., Adja-Akre M.,**

- Ceainu C., Le Goff G. & Simard F. (2003).** Systématique et biologie des anophèles vecteurs de Plasmodium en Afrique, données récentes. *Médecine Tropicale.*, **63 (3): 247-253.**
- Fontenille D. & Toto J. C. (2001).** *Aedes (stegomia) albopictus* (skuse), a potential new dengue vector in southern Cameroon. *Emerging Infectious Diseases*, **7 (6): 1066-1067.**
- Fontenille D., Wanji S., Djouaka R. & Awono-Ambene H.P. (2000).** *Anopheles hancocki*, vecteur secondaire du paludisme au Cameroun.
- Gillies M.T. & Coetzee M. (1987).** A supplement to the *Anophelinae* of Africa south of the Sahara *Publication of the South African Institute for Medical Research*, **55: 143p.**
- Gillies M.T. & De Meillon B. (1968).** The *Anophelinae* of Africa south of the Sahara. *Publication of the South African Institute for Medical Research*, **54: 343p.**
- Google map.** Coordonnées géographiques de Pouth-Kélé (3°84667N ; 10°812061E).
- Hamon J. (1963).** Les moustiques anthropophiles de la région de Bobo-Dioulasso (République de Haute-Volta) ; cycles d'agressivité et variations saisonnières. *Annales de la Société Entomologique de France*, **132 : 85-144.**
- Hamon J., Chauvet G. & Mouchet J. (1963).** Quelques aspects de l'écologie des vecteurs du paludisme humain en Afrique. *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie 1*, p. 5-12.
- Harbach R. (2008).** Family Culicidae Meigen, Mosquito Taxonomic Inventory. Retrieved from <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045>.
- Hawley W.A. (1988).** The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **4: 1-40.**
- Hervy J.F., Le Goff G., Geoffroy B., Hervé J.P., Manga L. & Brunhes J. (1998).** Les anophèles de la région Afro-tropicale : logiciel d'identification et d'enseignement. *ORSTOM, Didactiques*, ISBN 2-7099-1380-1.
- James Gathany – CDC (2000) :** la morphologie de l'anophèle <http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/7861/7861.tif> » (consulté le 18 janvier 2022)
- Kamdem C., Tene Fossog B., Simard F., Etoua J., Ndo C., Kengne P., Boussès P., Etoa F.X., Awono-Ambene P., Fontenille D., Antonio-Nkondjio & C., Besansky N.J. (2012).**

Anthropogenic Habitat Disturbance and Ecological Divergence between Incipient Species of the Malaria Mosquito *Anopheles gambiae*. *PLOS ONE* 7, 39-453.

Kamgang B., Yougang A.P., Tchoupo M., Riveron J.M. & Wondji C. (2017). Temporal distribution and insecticide resistance profile of two major arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Yaoundé, the capital city of Cameroun. *Parasites & vectors* 10 (1), 1-9, 2017.

Kyalo D., Amratia P., Mundia C.W., Mbogo C.M., Coetzee M. & Snow R.W. (2017). A geo-coded inventory of anophelines in the Afrotropical Region south of the Sahara: 1898–2016. *Wellcome Open Res.* 2017, 2, 57.

Mandeng S.E., Awono-Ambene P.H., Bigoga J.D., Ekoko W.E., Binyang J., Piameu M., Mbakop L.R., Nono Fesuh B., Mvondo N., Tabue R., Nwane P., Mimpfoundi R., Toto J.C., Kleinschmidt I., Knox T.B., Mnzava A.P., Donnelly M.J., Fondjo E. & Etang J. (2019). Spatial and temporal development of deltamethrin resistance in malaria vectors of the *Anopheles gambiae* complex from North Cameroon. *PLOS ONE* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212024>.

Manga L., Robert V., Messi J., Desfontaine M. & Carnevale P. (1992). Le paludisme urbain à Yaoundé, Cameroun. 1 Etude entomologique dans deux quartiers centraux. *Mémoire de la Société Royale Belge d'Entomologie.*, 35: 155-162.

Matile L. (1978). Faune entomologique de l'Archipel des Comores. *Mémoire du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris*, 388p.

Mbakop Lili R., Awono-Ambene P.H., Mandeng S.E., Ekoko W.E., Nono Fesuh B., Antonio-Nkondjio C., Toto J.C., Nwane P., Fomena A. & Etang J. (2019). Malaria Transmission around the Memve'ele Hydroelectric Dam in South Cameroon: A Combined Retrospective and Prospective Study, 2000–2016. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16, 1618; doi:10.3390/ijerph16091618.

Meyer C. (2015)/ [culicidés \[archive\]](#), *Dictionnaire des Sciences Animales*. [\[lire en ligne \[archive\]\]](#). Montpellier, France, [19/01/2022], <http://dico-sciences-animales.cirad.fr>

Minsanté (2016). Profil entomologique du paludisme au Cameroun. 41 p.

Minsanté (2019). Guide de prise en charge du paludisme au Cameroun à l'usage du personnel de santé. 71p. <http://cdnss.minsante.cm>

- Mouchet J. & Gariou J. (1984).** Répartition des anophèles vecteurs du paludisme au Cameroun orientale. *ORSTOM, fonds documentaire N° : 16.232, cote : B.*
- Mouchet J., Carnevale P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Lenoble R. & Sircoulon J. (2004).** Biodiversité du paludisme dans le monde. *John Libbey Eurotext. 428p.*
- Nimpaye H., Van Der Kolk M., Fontenille D. & Boudin C. (2001).** Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun) en 2000. Etude entomologique dans le quartier central "Dakar". *Bulletin de Liaison Documentaire. OCEAC, 34 (2): 11-14.*
- Nwane P., Etang J., Chouaïbou M., Toto J.C., Koffi A., Mimpfoundi R. & Simard F. (2013).** Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Cameroon, Central Africa. *Parasites & Vectors 2013, 6:41*
<http://www.parasitesandvectors.com/content/6/1/41>.
- OMS (2002).** Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs: Guide du stagiaire. Provisoire, OMS, Genève. *102p.*
- OMS (2003).** Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs : Guide du stagiaire. *Edition provisoire. WHO/CDS/CPE/SMT/2003. 18, 102p.*
- OMS (2006).** Evaluation de la santé. In : Rapport sur la santé dans le monde : la vie au 21ème siècle, une perspective pour tous. *Organisation Mondiale de la Santé (ed), Genève, Suisse : 43-65.*
- OMS (2008).** Vingt-troisième rapport technique du comité d'expert du Paludisme de l'OMS. <http://www.afro.who.int/omscam/palud.html>.
- OMS (2012).** Manuel de Formation à l'Entomologie du Paludisme à l'intention des techniciens en entomologie et lutte anti-vectorielle (Niveau de base).
- OMS (2014).** Entomologie du paludisme et lutte anti-vectorielle : guide du participant, module de formation à la lutte contre le paludisme.
- OMS (2019).** Cadre de mise en œuvre de l'action mondiale pour la lutte contre les vecteurs dans la région africaine de l'OMS. *Comité Régional de l'Afrique 19juillet 2019, AFR/RC69/9.*
- OMS (2020).** Rapport mondial sur le paludisme 2020. [/malaria/world-malaria-reports/9789240015791-double-pageview.pdf?sfvrsn=2c24349d_5](https://www.who.int/malaria/world-malaria-reports/9789240015791-double-pageview.pdf?sfvrsn=2c24349d_5) (consulté le 25 mai 2021 à 09h57).

- OMS (2021).** Rapport mondial sur le paludisme 2021 disponible à l'adresse <https://www.who/malaria/world-malaria-reports/2021> (consulté le 07 Janvier 2022 à 17h57).
- Philogene B. J. R. (1991).** L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes : problèmes et perspectives. La lutte anti-acridienne. *Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext. Paris, p 269-278.*
- PCD (2008).** Plan communale de développement d'Eséka. 159p
- PNLP (2018).** Profil entomologique du paludisme au Cameroun. Rapport Minsanté Cameroun, 20-21p.
- PNLP (2019).** Plan stratégique national de lutte contre le paludisme au Cameroun 2019-2023. Rapport Minsaté Cameroun, 103p.
- Rageau J. & Adam J. P. (1952).** Culicinae du Cameroun. *Annales Parasitologie humaine et comparée, 27(6): 610- 635.*
- Rickenbach A., Ferrara L., Eouzan J.P., Germain M. & Button J.P. (1972).** Cycle d'agressivité et répartition verticale de quelques espèces de moustiques forestiers de la région de Yaoundé (Cameroun). *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie, vol. X(4), p. 309-325.*
- Rickenbach A., Eouzan J. P., Ferrara L. & Bailly-Choumara H. (1976).** Données nouvelles sur la présence et la répartition des *Toxorhynchitinae* et *Culicinae* (Diptera, Culicidae) au Camerou 1.Genres *Toxorhynchites, Malaya, Hodgesia, Uranotaenia, Aedeomyia, Culiseta, Orthopodomyia, Ficalbia, Mansonia* et *Aedes*. *Cah. ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie, 14 (1): 61-68.*
- Robert V. & Carnevale P. (1984).** Les vecteurs des paludismes en Afrique Sub-saharienne. ORSTOM fond documentaire n° 15173, cote B, P 79-90.
- Rozendaal J. A. (1999).** La lutte antivectorielle : Méthodes à usage individuel et communautaire. *OMS, Genève .449p. 09-46.*
- Same Ekobo (2005).** Aspects épidémiologiques du paludisme au Cameroun ; *revue critique ; journal of the Cameroon Academy of sciences (5), p 3-16.*

- Saotoing P., Fohouo Tchuenguem F.N. & Njan Nlôga A.M. (2014).** Enquête entomologique sur la faune culicidienne de la ville de Maroua, Région de l'Extrême-Nord Cameroun ; *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 9 No. 1 Nov. 2014, pp. 438-448.
- Scholte E.J., Njiru B.N., Smallegange R.C., Takken W. & Knols B.G. (2003).** Infection of malaria (*Anopheles gambiae s.s.*) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Malaria Journal* 2003, 2:29.
- Scholte E.J., Ng'habi K., Kihonda J., Takken W., Paaijmans K., Abdulla S., Killeen G.F. & Knols B.G.J. (2005).** An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. *Science*, 308:1641-1642.
- Sherrard-Smith E., Skarpa J.E., Beale A.D., Fornadel C., Norris L.C., Moore S.J., Mihreteab S., Charlwood J.D., Samir Bhatt, Winskill P., Griffin J.T. & Churcher T.S. (2019).** Mosquito feeding behavior and how it influences residual malaria transmission across Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (30), 15086-15095.
- Signère G., Cousserans J. & Vigo G. (1971).** Sensibilité des larves de *Mansonia C ricbiardii* à quelques insecticides. Effet de l'abate dans un biotope larvaire. *cahier ORSTOM Série Entomologie Médicale et Parasitologie* 255-263.
- Silver J. B. (2008).** Mosquito Ecology (Springer Netherlands, 2008). <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6666-5>.
- Simard F., Nchoutpouen E., Toto J.C. & Fontenille D. (2005).** Geographical distribution and breeding site preference of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) in Cameroon, Central Africa. *Journal of Medical Entomology*, 42 (5): 726-731.
- Simard F., Ayala D., Kamdem G.C., Pombi M., Etouana J., Kenji O., Fotsing J.M., Fontenille D., Besansky N.J. & Costantini C. (2009)** Ecological niche partitioning between *Anopheles gambiae* molecular forms in Cameroon: the ecological side of speciation. *BioMed Central Ecology* 9:17.
- Skuse F.A.A. (1894).** The banded mosquito of bengal. *Indian Museum Note*. 3(5) : p. 20.
- Suchel J.B. (1987).** Les climats du Cameroun. Thèse de Doctorat d'Etat. *Université de Bordeaux III*;1186.

- Tanga M., Wgundu W. & Tchouassi P. (2011).** Daily survival and human blood index of major malaria vectors associated with oil palm cultivation in Cameroon and their role in malaria transmission. *Médecine Tropicale & Santé Internationale* 16 (4), 447-457.
- Tchouassi D.P., Quaky1 I.A., Addison E.A., Kwabena Bosompem M., Wilson M.D., Appawu M.A., Brown C.A. & Boakye A.D. (2012).** Characterization of malaria transmission by vector populations for improved interventions during the dry season in the Kpone-on-Sea area of coastal Ghana. *Parasites & Vectors* 2012, 5:212.
- Tchuandom S.B., Tchouangueu T.F., Antonio-Nkondjio C., Lissom A., Ngono Djang J.O., Atabonkeng E.P., Assumpta K., Nchinda G. & Kuate J.R. (2018).** Seroprevalence of dengue virus among children presenting with febrile illness in some public health facilities in Cameroon. *Pan African Medical Journal* ;67:313–20. 82.
- Tchuandom S.B., Lissom A., Ateba G.H.M., Tchouangueu T.F., Tchakounte C., Ayuk A.R., Atabonkeng E.P., Ankiambom Ngong I., Nchinda G. & Kuate J.R. (2020).** Dengue virus serological markers among potential blood donors: an evidence of asymptomatic dengue virus transmission in Cameroon. *Pan African Medical Journal* ;36:185.
- Wirtz R.A., Zavala F., Charoenvit Y., Campbell G. H., Burkot T. R., Schneider I., Esser K.M., Beaudoin R.L. & Andre R.G. (1987).** Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. *Bulletin of the World Health Organization*, 65(1), 39-45.