

LES VECTEURS DU PALUDISME AU SÉNÉGAL : UNE SYSTÉMATIQUE EN ÉVOLUTION

LOCHOUARN L. *, DIA I. *, COLUZZI M. **, FAYE O. ***, ROBERT V. *, SIMARD F. *, LEMASSON J.J. *, FONTENILLE D. *

Résumé :

Les anophèles du complexe *Anopheles gambiae* sont avec *Anopheles funestus* les vecteurs du paludisme au Sénégal. La détermination précise des espèces vectrices et une connaissance approfondie de leur biologie sont indispensables à la mise en place de stratégies de lutte antivectorielle efficaces et adaptées à chaque contexte épidémiologique.

Les espèces du complexe *An. gambiae*, indifférenciables morphologiquement, sont maintenant identifiées par PCR à partir d'une seule patte.

L'espèce *An. funestus* présente dans certaines régions du Sénégal des comportements inhabituels, en particulier au niveau du taux d'anthropophilie. Les premiers résultats de l'étude cytogénétique menée sur des populations d'origine géographique variée sont dès maintenant en faveur de l'existence d'au moins deux espèces. Une étude gène-enzyme est menée parallèlement pour confirmer ces résultats.

Ces recherches visent à améliorer la détermination des vecteurs du paludisme au Sénégal et à préciser leur statut taxonomique.

INTRODUCTION

Sur les 400 espèces d'anophèles répandues dans le monde, seulement une soixantaine sont des vecteurs du paludisme et une vingtaine, à elles seules, sont à l'origine de la plupart des cas.

Les anophèles du complexe *Anopheles gambiae* sont avec *Anopheles funestus* les vecteurs du paludisme au Sénégal (DIAGNE et al., 1994).

La population d'*Anopheles funestus* n'est pas homogène au Sénégal. Des arguments basés sur les taux d'infection, le comportement trophique, et récemment sur l'analyse cytogénétique suggèrent la présence de différentes espèces, comme c'est le cas dans d'autres zones d'Afrique de l'Ouest (BOCCOLINI et al., 1994).

La notion d'espèce a varié avec les progrès de la biologie. Pour CUVIER, c'était «une collection de tous les corps organiques nés les uns des autres ou de parents communs et de ceux qui leur ressemblent, autant qu'ils se ressemblent entre eux». La base de l'espèce était donc essentiellement morphologique et c'est effectivement sur des critères de cet ordre que furent décrites la plupart des espèces actuellement connues. En 1963, MAYR définissait les espèces comme «des groupes de populations naturelles capables d'intercroisement et reproductivement isolées d'autres groupes semblables». Des spécimens morphologiquement indifférenciables peuvent être reproductivement isolés et appartenir à des espèces distinctes que l'on a surnommées «espèces jumelles» («sibling species» des auteurs anglo-saxons) et qui forment un complexe d'espèces. Les principales méthodes utilisées pour la détermination précise de l'espèce à l'intérieur du complexe sont l'étude cytogénétique des chromosomes polytènes, l'analyse d'isoenzymes, l'analyse des hydrocarbures cuticulaires, les sondes ADN et la technique PCR de polymérisation en chaîne.

MATERIEL ET METHODES

• Le complexe *gambiae*

En Afrique, *Anopheles gambiae* a donné naissance à 6 espèces dont trois ont été signalées au Sénégal : *An. gambiae* s.s., *An. arabiensis* et *An. melas* (*melas* se développe en eau saumâtre, est un mauvais vecteur et est rare dans nos zones d'étude) et qui sont actuellement déterminées par la méthode de polymérisation en chaîne (FONTENILLE et al., 1993 ; SCOTT et al., 1993) qui permet l'identification de tous les anophèles du complexe *gambiae* capturés, et ce seulement à partir d'une seule patte. Le moustique est conservé simplement dans un tube avec dessiccateur.

Quatre amorces de 20 nucléotides distinguant des différences spécifiques d'espèces dans les séquences d'espacement non traduites des gènes ribosomiaux (Ribosomal DNA intergenic spacers) sont utilisées. L'amplification de l'ADN d'*An. gambiae*, *An. arabiensis* et *An. melas* produit des fragments de respectivement 313, 388 et 460 paires de bases qui sont révélés par migration sur gel d'agarose et marquage au bromure d'éthidium (fluorescence sous UV).

Fonds Documentaire ORSTOM

• *Anopheles funestus*

Cote : BX 15447 Ex : 1

An. funestus a été signalée dans toutes les régions biogéographiques du Sénégal (VERCRUYSSÉ & JANCLOES, 1981 ; CAMICAS et al., 1987 ; FAYE et al., 1993) mais elle est peu abondante actuellement dans certaines régions comme celles du Nord et du Centre (déficit pluviométrique enregistré depuis les années 70, traitements insecticides (GUEYE, 1969), augmentation de la salinité des eaux en Casamance (FAYE, 1987)).

Nous avons récolté les anophèles dans trois zones différentes : - à Dielmo, village situé en zone de savane soudanienne près du littoral atlantique. La transmission du paludisme est pérenne du fait d'une rivière d'eau douce permanente. - à Wassadou, village en zone soudano-guinéenne et caractérisé par une saison des pluies de 5 à 6 mois de précipitations régulières. - dans la région de Kédougou à l'extrême Sud-Est du Sénégal. La pluviométrie est abondante et cette région est traversée par le fleuve Gambie. Les moustiques sont capturés sur homme ou récoltés en faune résiduelle par pulvérisation intradomiciliaire de pyréthrinoïdes.

Pour tenter de répondre à la question, *An. funestus* est-il en fait un complexe d'espèce ? nous avons choisi deux méthodes : la cytogénétique des chromosomes polytènes et l'électrophorèse des protéines.

Parmi les moustiques récoltés en faune résiduelle, les femelles semi-gravidés sont disséquées et les ovaires conservés dans du Carnoy pour l'étude des chromosomes (COLUZZI et al., 1979), tous les moustiques gorgés sont testés en Elisa «repas de sang» pour la détermination de

Fonds Documentaire ORSTOM



010015447

* ORSTOM, BP 1386, Dakar
** Université de Rome, Italie
*** Département de Biologie Animale, UCAD, Dakar

l'hôte (BEIER et al., 1988) et une recherche de l'antigène CSP est réalisée par Elisa à partir du broyat tête-thorax (BURKOT et al., 1984). Les moustiques non gorgés ainsi que ceux capturés sur homme sont conservés dans l'azote liquide pour une étude enzymatique. Chez chaque moustique, le nombre d'isoenzymes ayant une activité catalytique donnée est généralement faible et un petit nombre de bandes colorées apparaît sur les gels. Chaque bande correspond à une protéine distincte dont la synthèse est contrôlée par un, deux ou plusieurs gènes. Les phénotypes enzymatiques observés sur les zymogrammes peuvent être traduits en termes de génotypes, de gènes et d'allèles. Nous ne présenterons ici que les résultats préliminaires obtenus avec l'hexokinase (HK).

RESULTATS

• Le complexe *gambiae*

L'identification des espèces du complexe *gambiae* par la technique PCR a permis de mettre en évidence une grande hétérogénéité de la répartition des espèces du complexe *gambiae* en fonction des différentes régions climatiques et selon les années (Figure 1). *An. arabiensis* est le seul vecteur présent à Dakar. On rencontre *An. arabiensis* et *An. gambiae* à Barkedji, sur le fleuve Sénégal, à Dielmo, à Ndiop et à Wassadou. A Wassadou, en 92 et 93, *An. gambiae* était largement dominant et en 94 c'est *An. arabiensis* qui a été l'espèce la plus abondante.

D'une manière générale, l'indice sporozoïtique d'*An. gambiae* est supérieur à celui d'*An. arabiensis*, mais la large répartition et l'abondance au long de l'année d'*An. arabiensis* font qu'il est le vecteur principal du paludisme au sein du complexe *gambiae* au Sénégal.

Avec l'exemple de Dielmo (Figure 2) nous pouvons illustrer la part prise par chaque espèce dans la transmission sur un suivi de 3 ans. A Dielmo, les 3 espèces du complexe *gambiae* sont présentes mais *An. melas* est très rare, l'espèce *An. funestus* est très présente. La transmission a lieu toute l'année, mais le vecteur principal varie selon les années et les saisons, en fonction de l'abondance de chacune des espèces et de leur taux d'infestation. Le calcul de l'indice circumsporozoïtique et du taux d'agressivité a permis d'évaluer, par mois, la part prise par chaque espèce dans la transmission. *An. funestus*, *An. gambiae* et *An. arabiensis* ont assuré respectivement 71%, 21 % et 7 % de la transmission d'avril 1992 à mars 1993 (205 piqûres infectantes par homme), et respectivement 28 %, 11 % et 61 % d'avril 1993 à mars 1994 (89 piqûres infectantes) et 48%, 6%, 46% d'avril 1994 à mars 1995 (138 piqûres infectantes).

• *Anopheles funestus*

Les études de transmission réalisées à Dielmo en 1992-1993, ont montré que les *An. funestus* capturés sur homme avaient un indice sporozoïtique deux fois supérieur à ceux capturés en faune résiduelle dans les chambres et les greniers. Des observations faites au Sénégal oriental ont montré que, contrairement à ce que l'on connaissait de l'espèce, *An. funestus* présentait un comportement hautement zoophile.

L'anthropophilie d'*An. funestus* a varié selon le site de récolte (Figure 3). A Dielmo l'anthropophilie était de 90% dans les chambres, de 79 % dans la région de

Kédougou et de 31% à Wassadou. Ces résultats confirment ceux de 1993 qui rapportaient un taux d'anthropophilie anormalement bas à Wassadou.

L'analyse des chromosomes des ovaires de 56 femelles a montré la présence de 5 inversions (a, b, t, u et z). Sur le bras 2, toutes les inversions ont été observées chez les moustiques originaires de la région de Kédougou, seulement 2 (t et a) chez ceux de Wassadou et tous les moustiques de Dielmo étaient porteurs homozygotes de l'arrangement standard pour les 5 inversions. Sur les bras 3 et 5 c'est toujours chez les moustiques capturés à Dielmo que l'arrangement standard est le plus fréquent. Les inversions forment des arrangements chromosomiques qui s'associent pour former différents caryotypes (Tableau 1) et nous avons calculé selon l'équilibre de Hardy-Weinberg les effectifs attendus des différents caryotypes observés sur les bras 2, 3 et 5. La comparaison de ces effectifs avec ceux observés a montré que les différences ne sont pas significatives pour les populations de Dielmo et pour celles du Sénégal oriental. L'équilibre de Hardy-Weinberg n'a pas été vérifié sur l'ensemble des populations.

A cette date le nombre de moustiques testés est encore insuffisant pour tirer des conclusions de l'étude gène-enzyme mais si on considère l'exemple du locus 2 de l'hexokinase : 4 allèles ont été identifiés (97, 100, 103 et 109) et l'allèle 100 a été le plus fréquent. Sur 23 individus testés (10 à Dielmo et 13 à Kédougou) l'allèle 100 a été le seul présent chez les moustiques de Dielmo (homozygotes) alors qu'à Kédougou les 4 allèles ont été présents. Comme dans l'étude cytogénétique, les moustiques originaires de Dielmo sont différents de ceux récoltés au Sénégal oriental.

CONCLUSION

Les études cytogénétique et enzymatique des populations d'*An. funestus* au Sénégal font apparaître une grande hétérogénéité des populations et *An. funestus* serait ainsi probablement constituée de deux unités taxonomiques dont une serait monomorphe ou presque et l'autre polymorphe.

Le contrôle du paludisme maladie peut dans certains cas être obtenu dans le cadre d'actions intégrées comprenant une lutte contre les vecteurs en plus du traitement des malades.

Seule une bonne connaissance des populations vectrices peut permettre d'envisager un contrôle dans le cadre d'une lutte intégrée. Si un contrôle des vecteurs devait être entrepris, quelles que soient les méthodes choisies (insecticides, moustiquaires, contrôle génétique) il convient de bien connaître la cible, et donc de bien identifier ces populations vectrices. C'est une dépense inutile d'énergie et de moyens de s'attaquer à des espèces/populations peu ou non vectrices.

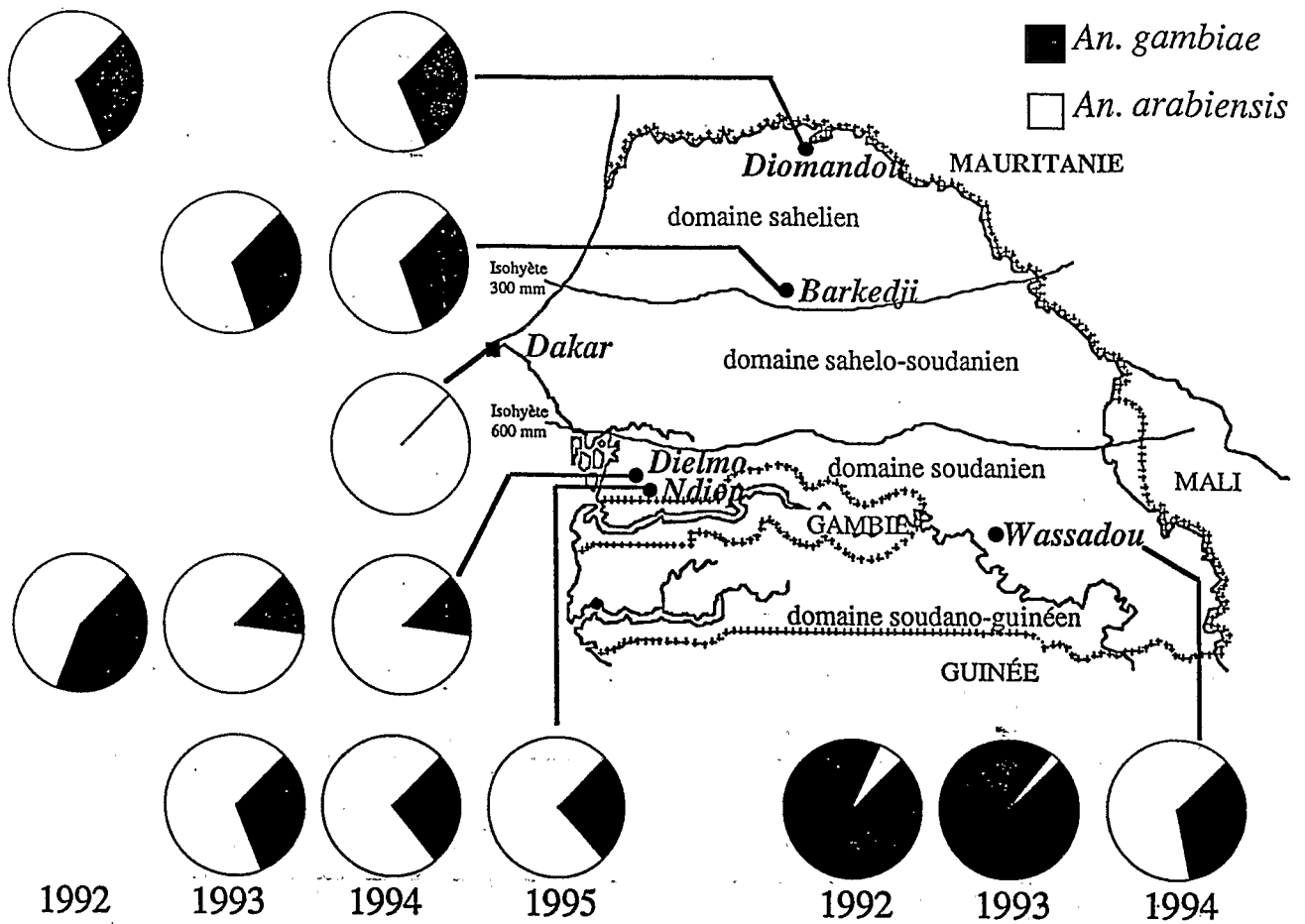


Figure 1 :
Proportion des espèces du complexe *Anopheles gambiae*

Dielmo

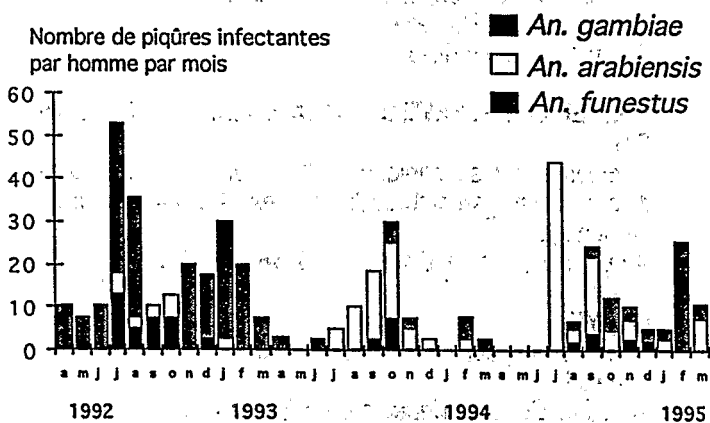


Figure 2 :
Comparaison de la transmission par *An. gambiae*, *An. arabiensis* et *An. funestus*. Dielmo, 1992-1995

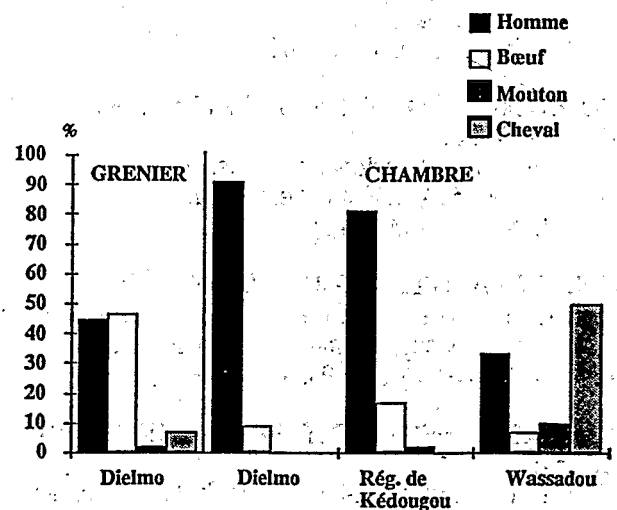


Figure 3 :
Comportement trophique des *An. funestus* récoltés en faune résiduelle intradomiciliaire dans différents sites au Sénégal, Mai 1994-Avril 1995

Tableau I :
Fréquences des principaux arrangements caryotypiques chez *An. funestus*

BRAS 2											
	+/+	a/a	ab/a	ab/ab	au/a	t/a	ab/t	t/t	t/+	tz/t	Nbre total chromatides
Dielmo	100.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28
Kédougou	-	8.7	4.3	4.3	4.3	39.1	8.7	13.0	8.7	8.7	23
Wassadou	-	50.0	-	-	-	25.0	-	25.0	-	-	4

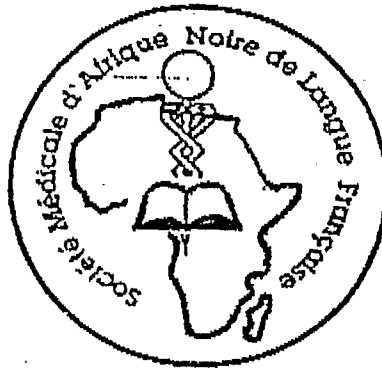
BRAS 3							
	+/+	ab/ab	ab/b	b/+	a/b	a/+	Nbre total chromatides
Dielmo	57.7	-	-	23.1	7.7	11.5	26
Kédougou	-	92.8	7.2	-	-	-	28
Wassadou	-	75.0	25.0	-	-	-	4

BRAS 5				
	+/+	a/a	a/+	Nbre total chromatides
Dielmo	29.6	11.1	59.3	23
Kédougou	19.2	34.6	46.2	23
Wassadou	-	50.0	50.0	4

BIBLIOGRAPHIE

- **BEIER J.C., PERKINS, P.V., WIRTZR.A., KOROS J., DIGGS D., GARGAN T.P. II & KOECH D.K.**
Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tested on *Anopheles* (*Diptera: Culicidae*) in Kenya.
J. Med. Entomol., 1988, 25 : 9-16.
- **BOCCOLINI D., SABATINI A., SANOGO N., COLUZZI M. & COSTANTINI C.**
Chromosomal and vectorial heterogeneities in *Anopheles funestus* from Burkina Faso, West Africa.
Parasitologia, 1994, 36, Suppl. 1, 20.
- **BURKOT T.R., WILLIAMS J.L. & SCHNEIDER I.**
Identification of *Plasmodium falciparum*-infected mosquitoes by a double antibody enzyme linked immunosorbent assay.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1994, 33 : 783-788.
- **CAMICAS J.L., HERVY J.P., FERRARA L., HEBRARD G. & CORNET J.P.**
Activités du laboratoire ORSTOM de Zoologie Médicale. Rapport sur le fonctionnement de L'Institut Pasteur de Dakar, 1987, 118-131.
- **COLUZZI M., SABATINI A., PETRARCA V. & DIDECOM A.**
Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in *Anopheles gambiae* complex.
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1979, 73 : 483-497.
- **DIAGNE N.A., FONTENILLE D., KONATE L., FAYE O., LAMIZANA M.T., MOLEZ J.F. & TRAPE J.F.**
Les anophèles du Sénégal. Liste commentée et illustrée.
Bull. Soc. Path. Ex., 1994, 87, 1-9.
- **FAYE O.**
Contribution à l'étude des *Anophelinae* (*Diptera, Culicidae*) et de la transsion du paludisme dans la zone du barrage anti-sel de Bignona (Ziguinchor, Sénégal).
Thèse de 3ème cycle, 1987, UCAD, 202 p.
- **FAYE O., SY N., KONATE L., GAYE O., FONTENILLE D., HERVÉ J.P., DIALLO S. & TROUILLET J.**
Comparaison de deux faciès de transmission du paludisme au Sénégal : les Niayes et le Sénégal oriental.
Dakar Méd. (à paraître).
- **FONTENILLE D., FAYE O., KONATE L., SY N. & COLLINS F.H.**
Comparaison des techniques PCR et cytogénétique pour la détermination des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Sénégal.
Ann. Parasitol. hum. Comp., 1993, 68 : 239-240.
- **GUEYE I.**
Quelques aspects de l'épidémiologie du paludisme au Sénégal.
Thèse de Doctorat Médecine, 1969, Dakar, 11, 175 p.
- **SCOTT J.A., BROGDON W.G. & COLLINS F.H.**
Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1993, 49, 4 : 520-529.
- **VERCRUYSE J. & JANCLOES M.**
Etude entomologique sur la transmission du paludisme humain dans la zone urbaine de Pikine (Sénégal).
Cah. ORSTOM sér. Ent. Méd. Parasitol., 1981, 19, 165-178.

DAKAR MEDICAL



S.G. ISSN 0049 - 1101

Bulletin de la Société Médicale d'Afrique Noire de Langue Française

COMMUNICATIONS

Données récentes de l'épidémiologie de la Fièvre de la Vallée du Rift (F.V.R.) au Sénégal (THIONGANE Y. et coll.)	1	La thrombose portale en milieu tropical : à propos d'une étude échographique-prospective (60 cas). (KA M.M. et coll.)	31
Souches chloroquinorésistantes de <i>Plasmodium falciparum</i> : infectivité du vecteur anophélien et utilisation des antipaludéens. (MOLEZ et coll.)	7x	L'ulcère marginal de la cornée : Maladie auto-immune, Nouveaux aspects thérapeutiques. (NDIAYE M.R. et coll.)	35
Problèmes posés par les évacuations obstétricales dans un centre de référence : Quelles solutions ? (KANDJI G. et coll.)	10	Profil des cancers de l'hypopharynx au Sénégal : Expérience de la Clinique ORL du CHU de Dakar 1984-1994. (NDIAYE I. et coll.)	38
Le médicament essentiel hospitalier en Afrique. Un exemple de Recherche médico-économique. (MEILLON C. et coll.)	19	Le cancer du rein de l'adulte au CHU de Dakar (GUEYE S.M. et coll.)	42
Séro-prévalences comparées du VHB et du VHC au cours du carcinome hépato-cellulaire. (SARR A. et coll.)	21	Les complications cardiaques de l'hypertension artérielle : Etude prospective à l'hôpital Principal de Dakar. (WADE B. et coll.)	48
Particularité de l'hydatidose hépatique en Afrique Noire. À propos de 32 cas d'hydatidose observés en République du Niger. (DEVELOUX M. et coll.)	24	Flux géniques chez <i>Anopheles gambiae</i> , vecteur du paludisme. Implication dans la transmission (SIMARD F. et coll.)	51
Place de la bilharziose hépatique au cours des hépatopathies en Médecine Interne à l'hôpital National du Point "G" Bamako-Mali (TRAORE H.A. et coll.)	26	Les vecteurs du paludisme au Sénégal : une systématique en évolution. LOCHOUARN L. et coll.)	55
Tumeur carcinoïde duodénale (À propos d'un cas dakarais). KA-CISSE M. et coll.)	29	Virus des hépatites B et C dans le carcinome hépatocellulaire au Sénégal. (KA M.M. et coll.)	59

Spécial Quarantenaire 1996