

CHAPITRE 10

Les anophèles (Diptera : Culicidae : Anophelinae)

Vincent Robert, Diégo Ayala, Frédéric Simard

Les anophèles sont des moustiques et, à ce titre, ont un cycle biologique dans lequel les stades aquatiques immatures alternent avec le stade adulte aérien à sexes différenciés. Seules les femelles sont hématophages et responsables de la transmission des *Plasmodium*, agents du paludisme. De ce fait, les anophèles constituent probablement le groupe d'insectes d'intérêt médical qui a été le plus étudié, et celui auquel l'humanité continue de payer le plus lourd tribut en termes de morbidité et de mortalité.

CARACTÉRISTIQUES DES ANOPHÈLES

Taxonomie et classification

Dans l'ordre des Diptera, la famille des Culicidae désigne l'ensemble des moustiques. Cette famille est divisée en deux sous-familles, les Culicinae et les Anophelinae. Cette dernière désigne l'ensemble des anophèles. La langue française considère le terme « anophèle » comme un nom commun du genre masculin.

La classification traditionnelle admet l'existence de trois genres parmi les Anophelinae :

- le genre *Anopheles* Meigen, 1818, avec 8 sous-genres (HARBACH, 2016), dont les quatre premiers comprennent tous les vecteurs de *Plasmodium* humains (fig. 10.1) :
 - le sous-genre *Anopheles* Meigen, 1818, avec 183 espèces cosmopolites,

- le sous-genre *Cellia* Theobald, 1902, avec 224 espèces de l'Ancien Monde,
- le sous-genre *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902, avec 40 espèces néotropicales,
- le sous-genre *Kerteszia* Theobald, 1905, avec 12 espèces néotropicales dont les stades préimaginaux sont inféodés aux Broméliacées ;
- le genre *Bironella* Theobald, 1905, présent en région Australasienne avec 8 espèces non vectrices ;
- le genre *Chagasia* Cruz, 1906, présent en région Néotropicale, du Mexique à l'Argentine ; avec 5 espèces de moustiques forestiers et zoophages.

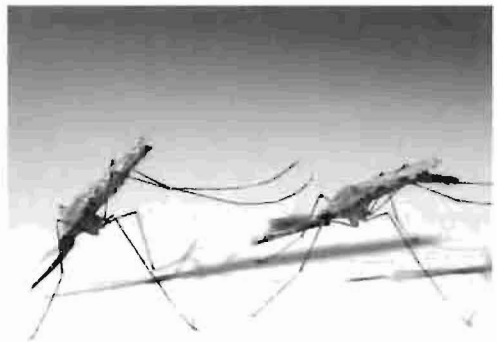


Figure 10.1 – Moustiques *Anopheles gambiae* mâle et femelle, respectivement à droite et à gauche.
© IRD/N. Rahola

Il existe aujourd'hui quelque 540 espèces d'anophèles dont 486 formellement décrites et une cinquantaine d'autres, également considérées comme valides, quoique non formellement décrites (HARBACH, 2016). Leur nombre augmente régulièrement, en partie à cause des nouvelles espèces identifiées génétiquement au sein de complexes d'espèces.

Phylogénie et phylogéographie

Plusieurs types de marqueurs morphologiques, cytogénétiques (inversions chromosomiques) et moléculaires (ADN ribosomal, ADN mitochondrial, gènes nucléaires ou maintenant génomes complets) ont été utilisés pour étudier la phylogénie et la phylogéographie des anophèles (COLUZZI *et al.*, 1979 ; KRZYWINSKI et BESANSKY, 2003 ; NEAFSEY *et al.*, 2015). Il résulte de ces études que la sous-famille Anophelinae désigne un lignage monophylétique et occupe une position basale dans l'ensemble des Culicidae. Le genre *Chagasia* est monophylétique et occupe une position basale pour l'ensemble des Anophelinae. Quant à eux, les genres *Anopheles* et *Bironella* ne sont pas idéalement individualisés, car ils ne sont pas monophylétiques l'un par rapport à l'autre (HARBACH et KITCHING, 2005). En revanche, chaque sous-genre d'*Anopheles* apparaît monophylétique.

En se basant sur le rythme estimé de divergence des séquences de gènes codants et sur les nœuds internes des phylogénies, les principaux lignages de moustiques actuels dateraient du début du Crétacé (145-100 millions d'années), et le lignage ancestral des anophèles se serait donc individualisé avant la transition Jurassique-Crétacé (\approx 145 millions d'années). La récente phylogénie moléculaire basée sur les génomes complets de 16 espèces d'anophèles montre une première division au sein de la sous-famille Anophelinae vers 100 millions d'années, et l'apparition des *Pyrethophorus* il y a 30 millions d'années (NEAFSEY *et al.*, 2015 ; fig. 10.2). Malheureusement, les fossiles manquent pour confirmer ces déductions.

La position basale du genre *Chagasia* et la distribution néotropicale de 4 des 8 sous-genres

d'*Anopheles* suggèrent, d'une part, que les Anophelinae seraient originaires du Nouveau Monde et, d'autre part, que la distribution cosmopolite du sous-genre *Anopheles* résulterait de phénomènes de radiation et de dispersion plus récents (KRZYWINSKI et BESANSKY, 2003). Par ailleurs, le caractère monophylétique des sous-genres *Cellia* (Ancien Monde) et *Anopheles* (cosmopolite) suggère que la séparation initiale au sein du genre *Anopheles* s'est réalisée avant la fragmentation du Gondwana (\approx 160 millions d'années) et que la première subdivision au sein du sous-genre *Anopheles* est antérieure à l'individualisation des continents africain et sud-américain, il y a 95 millions d'années (HARBACH, 2013).

Les anophèles ont une répartition très vaste, quasiment mondiale à l'exception des zones polaires (Nord-Canada, Alaska, nord de la Sibérie, Groenland, Islande, Antarctique), des îles du Pacifique central (à l'est du Vanuatu comme les îles de la Polynésie française) ou occidental (Nouvelle-Calédonie), de quelques îles isolées de l'Atlantique (Sainte-Hélène, Açores, Madère, etc.) et de l'océan Indien (Seychelles, Rodrigues, Kerguelen), ainsi que des Falkland, du sud du Chili et de l'Argentine (ROBERT *et al.*, 2011 a). Certaines espèces ont une aire de distribution limitée à des milieux particuliers (espèces cavernicoles troglobies ou troglaphiles comme *Anopheles hamoni* ou *An. caroni*), d'autres ont une répartition plus large, comme les espèces du complexe Gambiae trouvées de la frange sud-saharienne à l'Afrique australe en passant par la forêt d'Afrique centrale (HAY *et al.*, 2010 ; SINKA *et al.*, 2012). La colonisation d'un biotope dépend beaucoup de l'écologie larvaire qui peut être contrainte et inféodée à un petit nombre d'environnements, ou permissive pour une large gamme de milieux.

Détermination des espèces (critères de diagnose)

La morphologie externe des larves et des adultes permet une distinction rapide au niveau de la sous-famille (Anophelinae vs Culicinae) et des

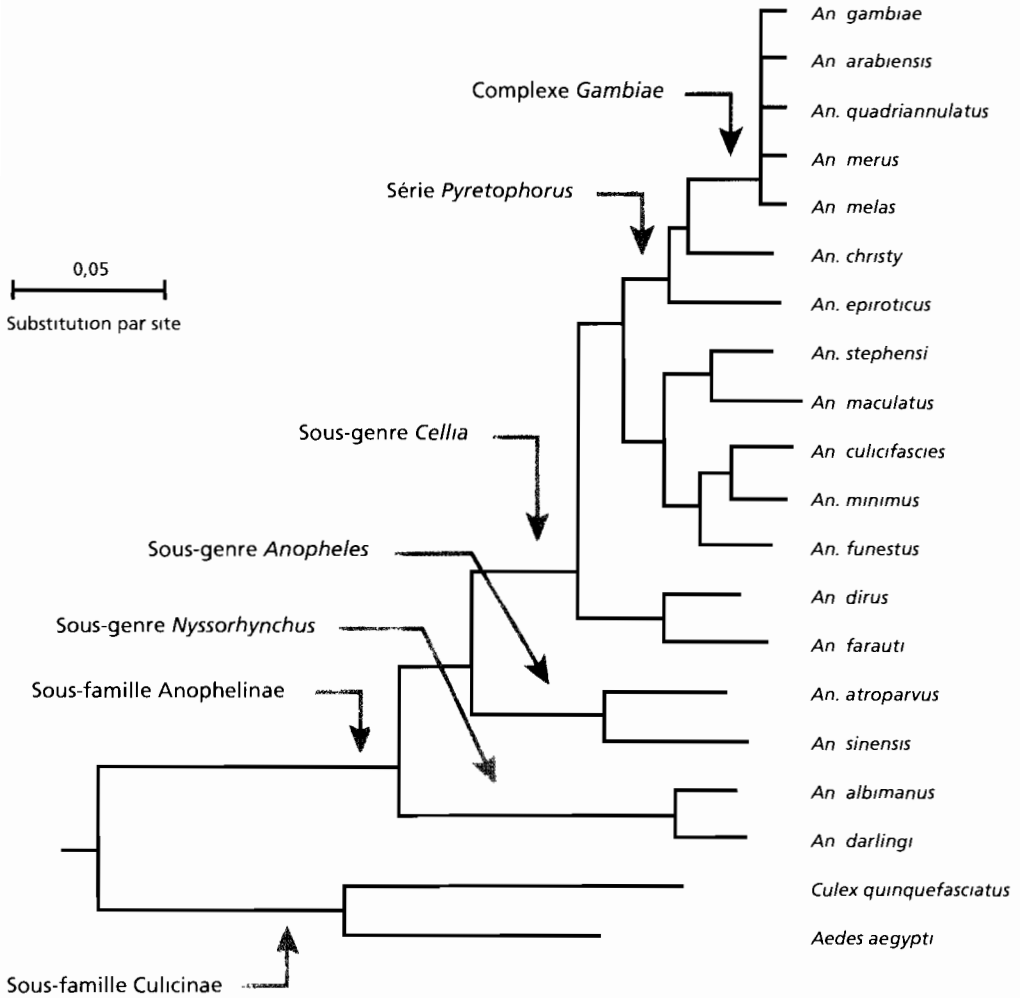


Figure 10.2 – Phylogénie moléculaire de 16 espèces d’anophèles (maximum de probabilité construit sur l’alignement de 1 085 séquences protéiques) ; deux Culicinae servent de groupe externe. D’après NEAFSEY *et al.* (2015).

genres. Au niveau spécifique, la morphologie externe permet aussi de différencier les espèces entre elles, à l’exception des espèces jumelles au sein des complexes ou groupes d’espèces. Différents types de marqueurs moléculaires sont alors utilisés pour les discriminer sur la base de variations sur leurs séquences d’ADN (COLLINS et PASKEWITZ, 1996 ; KRZYWINSKI et BESANSKY, 2003). De nombreux protocoles sont aujourd’hui

disponibles pour la diagnose de la plupart des espèces d’importance épidémiologique majeure et sont souvent utilisés en routine dans les laboratoires spécialisés. D’autres approches pour l’identification spécifique sont en cours d’étude et de validation, telles la morphométrie (SHEVTSOVA *et al.*, 2011) ou la reconnaissance du profil protéique par MALDI-TOF (MULLER *et al.*, 2013 ; YSSOUF *et al.*, 2013).

Identification morphologique des anophèles

Il existe de nombreuses clés de détermination permettant l'identification morphologique des anophèles à différents stades de leur développement. Les critères morphologiques observables sur les œufs et les nymphes existant en nombre limité et sans valeur diagnostique, les clés de détermination ciblent principalement les larves et les femelles. Les mâles, qui ne piquent pas, sont moins étudiés.

Ces clés reposent en général sur le principe de la dichotomie : une première question appelle une réponse duale Oui/Non ou Présence/Absence pour un caractère morphologique précis et renvoie à une nouvelle question du même type. L'utilisateur progresse ainsi de question en question jusqu'à aboutir à une indication d'espèce.

Ce type de clé est aujourd'hui disponible sur plusieurs supports : papier (dont certains ouvrages de référence tels que celui de GILLIES et COETZEE [1987] pour les anophèles de la région Afrotropicale, mais aussi des clés plus précises qui ciblent un pays ou une région donnée), CD-Roms (édités en particulier par l'IRD : http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/ed-09-10/010047862.pdf) ou sites internet (voir www.mivegec.ird.fr par exemple).

Chez les larves, l'alphataxonomie repose sur la présence ou l'absence, le nombre et l'aspect des soies qui recouvrent le corps de la larve et qui font l'objet d'une nomenclature précise. Chez les adultes, les critères morphologiques les plus utilisés ciblent essentiellement la distribution des taches d'écaillés pâles et sombres sur les pattes, les palpes et les ailes des anophèles.

Ces critères morphologiques ne permettent cependant pas d'identifier les espèces jumelles au sein des complexes, et il faut alors recourir à d'autres techniques : croisements entre souches de référence, cytogénétique, analyses isoenzymatiques et, de plus en plus, analyse des séquences d'ADN.

Identification génétique et moléculaire des espèces jumelles au sein des complexes

La quasi-totalité des vecteurs majeurs de *Plasmodium* humains appartient à des complexes d'espèces jumelles, semblables sur le plan de leur morphologie externe mais qui présentent des particularités biologiques, écologiques et génétiques. Ainsi, chez les espèces d'anophèles recensées, HARBACH (2013) en dénombrait 96 au sein de 26 complexes d'espèces. La plupart de ces complexes regroupent à la fois des espèces vectrices et des espèces non vectrices. Il est donc primordial de pouvoir les différencier, de manière à identifier correctement les espèces en présence dans une zone donnée, à évaluer leur importance épidémiologique dans la transmission des *Plasmodium* et à cibler correctement les actions de lutte.

Dans le passé, la mise en évidence des principaux complexes d'espèces d'anophèles a été faite sur la base de croisements réalisés en insectarium entre populations présentant des phénotypes nettement différenciés (par exemple, entre populations d'une même espèce morphologique colonisant des eaux saumâtres vs eaux douces, populations sensibles vs résistantes à un insecticide donné...) et qui ont révélé divers degrés d'isolement reproductif (descendance peu ou pas fertile, sex-ratio plus ou moins biaisé à l'émergence...). Des études de cytogénétique basées sur l'observation des chromosomes polytènes (chromosomes géants observables dans les cellules nourricières des ovaires des femelles au stade semi-gravide et/ou dans les glandes salivaires des larves en fin de stade IV) et des études du polymorphisme isoenzymatique ont ensuite permis d'identifier des différences génétiques permettant le diagnostic d'espèce. Depuis la fin des années 1990 et l'utilisation des techniques de biologie moléculaire en entomologie, plusieurs protocoles basés sur la technique de polymérisation en chaîne (PCR) ont été mis au point et sont maintenant utilisés en routine dans la plupart des laboratoires pour l'identification des spécimens collectés sur le terrain, quel que

soit leur stade de développement. L'amplification par PCR de régions spécifiques du génome permet la mise en évidence de différences sur l'ADN (substitutions nucléotidiques, insertions/délétions, présence/absence de transposons...) qui ont une valeur diagnostique d'espèce. Dans la plupart des cas, ces tests diagnostiques ciblent l'opéron codant pour les sous-unités ribosomiques (rDNA), présent en multiples copies sur le génome des anophèles et comprenant des régions codantes très conservées et des régions intergéniques (ITS1, ITS2, IGS) très variables et divergentes entre espèces même phylogénétiquement proches (COLLINS et PASKEWITZ, 1996). Chez les *Anopheles*, certains gènes mitochondriaux (ND4, ND5, COI ou COII) ont également été utilisés pour différencier les espèces au sein des complexes.

Morphologie

Les anophèles, comme les autres moustiques, se développent suivant une métamorphose complète (insectes holométaboles), de sorte que l'adulte, la larve et la nymphe ont des morphologies très différentes, adaptées à leur mode de vie respectif, aquatique pour les stades préimaginaux et aérien pour le stade imaginal ou adulte. On distingue quatre étapes dans la vie d'un anophèle : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte (mâle et femelle).

L'œuf

Les œufs sont pondus de couleur blanche, puis ils brunissent. L'œuf a une forme allongée et mesure environ 0,5 mm (fig. 10.3). Il comprend 3 membranes : la plus interne entoure le vitellus et l'embryon ; la membrane intermédiaire, l'endochorion, va durcir peu après la ponte et se pigmenter en brun foncé ; la troisième, l'exochorion, présente des ornements bien apparentes en microscopie électronique à balayage. L'observation en microscopie optique de la forme et de l'ornementation des œufs a permis la première distinction entre les espèces du complexe *An. maculipennis* dans la région Paléarctique (= Eurasie). Les œufs d'*An. maculipennis* sont clairs avec 2 bandes transversales,

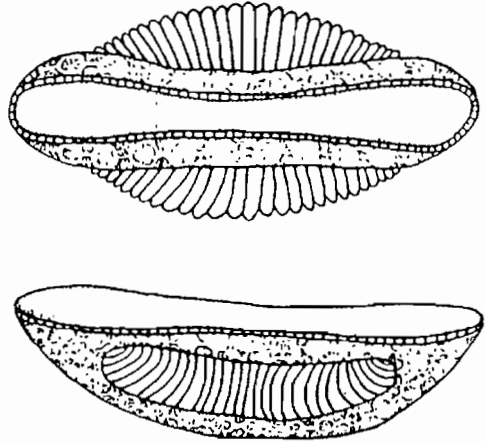


Figure 10.3 – Un œuf d'anophèle.

ceux d'*An. messeae* sont sombres avec souvent de grands flotteurs, ceux d'*An. melanoon* sont uniformément sombres, et ceux d'*An. sacharovi* sont uniformément gris clair, avec des flotteurs rudimentaires ou sans flotteurs. L'espèce d'eaux saumâtres *An. atroparvus* était associée à la présence de paludisme alors que d'autres, comme *An. messeae* et *An. maculipennis*, occupaient des zones sans paludisme, d'où la notion d'anophélisme sans paludisme (HACKETT, 1937). La distinction des espèces anophéliennes vectrices et non vectrices a ainsi permis de comprendre la répartition géographique du paludisme en Europe. Les analyses génétiques réalisées après la mise en évidence de ces caractères morphologiques de l'œuf ont confirmé l'existence de différentes espèces cryptiques au sein du complexe *An. maculipennis*.

Au stade de l'œuf, il est possible de reconnaître les *Anopheles* des *Aedes* et des *Culex* :

- les œufs d'*Aedes* sont pondus isolément sur un support à proximité de l'eau et résistent à la dessiccation ; l'éclosion nécessite un stimulus particulier ;
- les œufs de *Culex* sont réunis et forment une sorte de barquette flottant sur l'eau (on parle de ponte en radeau ou nacelle) ;
- les œufs d'*Anopheles* sont pondus isolément à la surface de l'eau, où ils flottent grâce à la

présence de flotteurs latéraux. Soumis aux forces des tensions superficielles, ils se regroupent parfois par leur extrémité pour former sur l'eau des sortes d'étoiles composées de 6 œufs. Ils résistent très mal à la dessiccation.

La larve

Les larves de moustiques se reconnaissent des autres larves d'insectes aquatiques par, entre autres, l'absence de pattes et un thorax relativement gros. Les larves d'anophèles ne présentent pas de siphon à l'extrémité abdominale, contrairement aux larves de Culicinae (fig. 10.4). De plus, elles se positionnent juste sous la surface de l'eau, face dorsale vers le haut, et restent parallèles à la surface, en contraste avec les larves de Culicinae qui se positionnent perpendiculairement à la surface de l'eau, tête en bas et siphon vers le haut.

Au cours de son développement, la larve passe successivement par 4 stades larvaires, notés I à IV, qui sont séparés par des mues intégrales. La larve de stade I mesure 1 à 2 mm ; elle mesurera entre 12 et 15 mm au stade IV. Elle se compose de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Cette structure ne change pas au travers des 4 stades larvaires (fig. 10.5).

La tête

La tête porte une paire de gros yeux composés et une paire d'antennes à rôle chémorecepteur (Xia *et al.*, 2008). Elle porte aussi une paire de brosses buccales qui servent à créer un courant d'eau apportant les particules alimentaires au niveau de la bouche ; on estime qu'une larve de stade IV peut ainsi brasser et filtrer 0,5 à 2 litres d'eau par jour. La tête comporte de nombreuses soies qui sont utilisées pour la diagnose spécifique, notamment les soies préclypéales internes et externes. Les critères diagnostiques incluent la présence/absence de soies spécifiques, leur aspect, le nombre et la distribution des ramifications, l'espacement relatif entre paires de soies, etc. La larve de stade I présente, sur la tête, une dent d'éclosion qui sert à percer, et ouvrir, le chorion de l'œuf. Cette dent n'existe plus chez les stades ultérieurs.

La tête est reliée au thorax par l'intermédiaire d'une membrane, au niveau du cou, qui permet la rotation à 180° de la tête.

Le thorax

Le thorax n'apparaît pas segmenté, mais il se compose de 3 segments coalescents (pro-, méso- et métathorax), chacun portant de nombreuses soies dont la forme et la taille diffèrent selon



Figure 10.4 – Larve d'*Anopheles claviger*.

© IRD/V. Rohbert

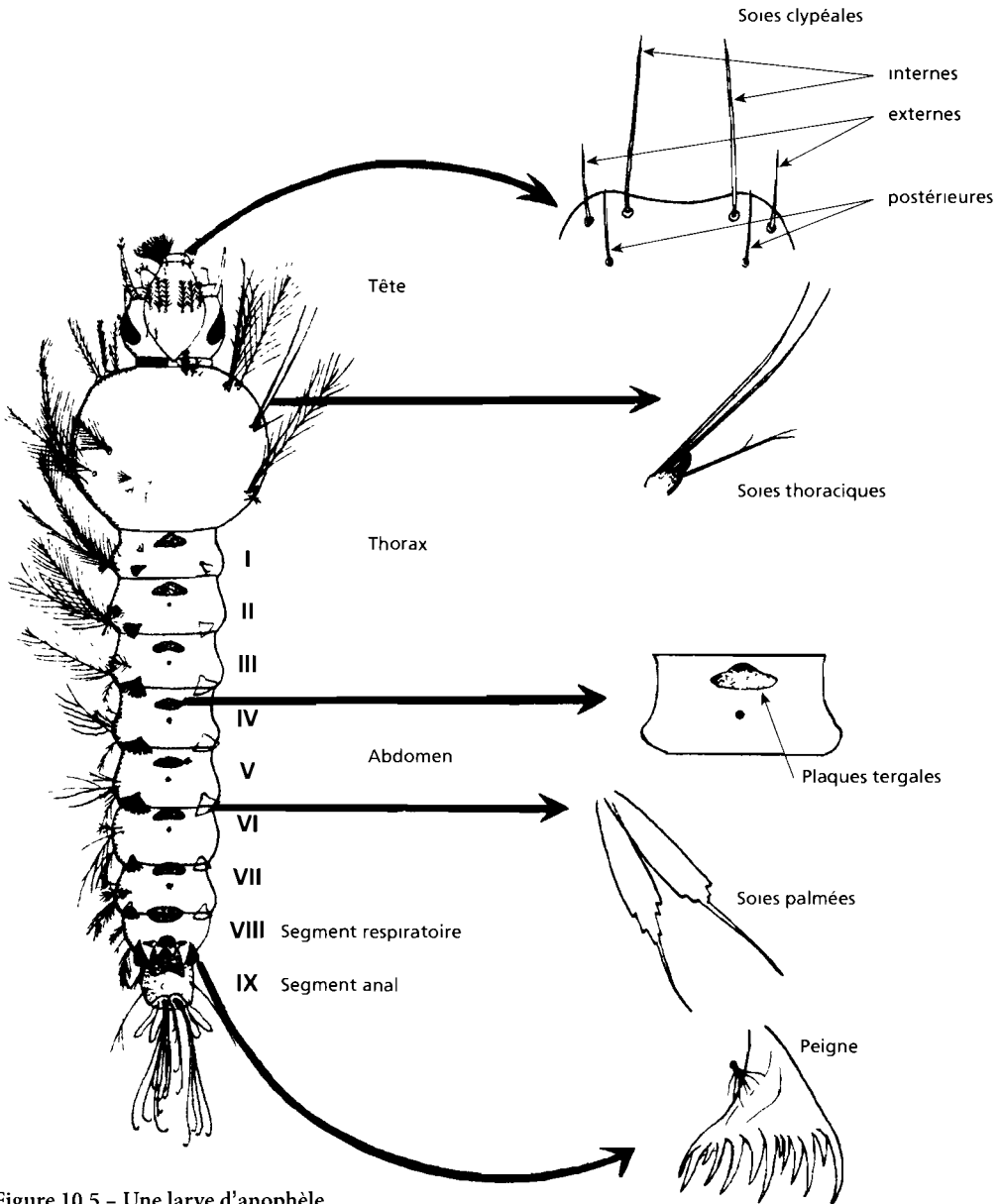


Figure 10.5 - Une larve d'anophèle.

leur implantation (les soies ventrales sont différentes des dorsales) et selon les espèces. Ces soies ont reçu une numérotation et sont utilisées pour la diagnose spécifique.

Au niveau du prothorax, une paire de glandes salivaires présente, chez les larves de stade IV-

fin, des chromosomes polytènes qui peuvent être utilisés pour des études cytogénétiques.

L'abdomen

L'abdomen comprend 9 segments bien visibles, chacun portant différentes ornements, notamment la plaque tergale et les plaques

accessoires, des soies, simples ou branchues ou palmées, etc. qui sont utilisées pour reconnaître les différentes espèces.

Les soies palmées abdominales, dont une paire est présente sur chacun des tergites I à VII, participent à la suspension de la larve et lui permettent de se maintenir horizontalement sous la surface de l'eau au repos.

Les 7 premiers segments abdominaux sont relativement comparables, mais de grandes modifications apparaissent au niveau des segments VIII (= segment respiratoire) et IX.

Le segment VIII porte latéralement un peigne de chaque côté (peigne du 8^e segment ou *pecten* pour les auteurs anglo-saxons), excroissance cuticulaire dont la forme des dents est utilisée en taxonomie, et dont la larve se sert en se recourbant avec souplesse pour « peigner » ses brosses buccales. Dorsalement, ce segment porte une paire de stigmates respiratoires (aussi appelés spiracles ou orifices stigmatiques) dont les ouvertures sont obturées par des valves stigmatiques quand la larve plonge. La larve d'*Anopheles* ne présente pas de siphon.

Le segment IX (= segment anal) n'est pas dans le prolongement du corps. Il porte une plaque sclérifiée, ou selle, plus ou moins importante selon les espèces, de nombreuses soies, utilisées en systématique, dont certaines sont modifiées pour constituer une « brosse ventrale » qui sert aux déplacements de la larve, et 2 paires de papilles anales, qui entourent l'anus et qui serviraient à maintenir l'équilibre osmotique de la larve.

L'anatomie interne des larves est conforme au plan général d'organisation des insectes. Le tube digestif est rectiligne et présente des caeca gastriques à la jonction entre les intestins antérieur et moyen, dans le thorax. Cinq tubes de Malpighi débouchent à la jonction entre les intestins moyen et postérieur, dans l'abdomen. Deux gros troncs trachéens sont facilement visibles par transparence, encadrant le vaisseau pulsatile dorsal ouvert aux deux extrémités sur la cavité générale, et assurant une circulation de l'hémolymphe de l'arrière de la larve vers

l'avant. Les glandes salivaires protoraciques se développent particulièrement chez les larves en fin de stade IV.

La nymphe

À la fin de la vie larvaire débute une métamorphose complète. La cuticule se fend longitudinalement pour laisser place à une nymphe (en anglais *pupa*) remarquable par la coalescence de la tête et du thorax qui forment un céphalothorax volumineux, auquel fait suite un abdomen de 10 segments (dont 8 sont bien visibles), terminé par une paire de palettes natatoires (fig. 10.6).

La nymphe possède deux trompettes respiratoires situées non plus à l'extrémité de l'abdomen comme la larve, mais positionnées latéralement sur le céphalothorax, avec une extrémité hydrophobe qui perce la surface de l'eau lorsque la nymphe est au repos.

Contrairement aux larves, il existe un net dimorphisme sexuel, les nymphes mâles (♂) sont plus petites que les femelles (♀). Il est possible de connaître le sexe d'une nymphe en observant ventralement les genitalia entre les palettes natatoires, qui sont nettement plus volumineuses chez le ♂.

La diagnose des *Anopheles* vs *Aedes* et *Culex* est plus délicate au stade nymphal qu'aux autres stades. Les trompettes respiratoires sont plus courtes et plus évasées chez les Anophelinae que chez les Culicinae, où elles sont longues et



Figure 10.6 – Nymphe d'*Anopheles hyrcanus*.

© IRD/N. Rahola

régulières. La soie latérale du segment 8 est positionnée à l'angle inférieur du segment chez les Anophelinae, alors qu'elle est reportée au-dessus de l'angle inférieur chez les Culicinae. En cas de doute, on place les nymphes récoltées dans des flacons avec de l'eau du gîte pendant 24 ou 48 heures et on attend l'émergence de l'adulte, qui est alors plus facilement identifiable.

L'adulte

L'adulte (ou imago) d'anophèle comporte 3 parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (fig. 10.7). La taille des moustiques

adultes est très variable, avec un clair dimorphisme sexuel. Les ♀ sont généralement plus grandes que les ♂. Il existe des anophèles de grande taille (jusqu'à 20 mm) comme *An. implexus* ou *An. pharoensis*, et de petite taille (< 10 mm) comme *An. marshalli*. Néanmoins, la taille des adultes peut également varier au sein d'une espèce ; elle est étroitement corrélée aux conditions du développement larvaire (qualité et quantité de nourriture, température, compétition et autres stress biotiques ou abiotiques subis lors du développement).

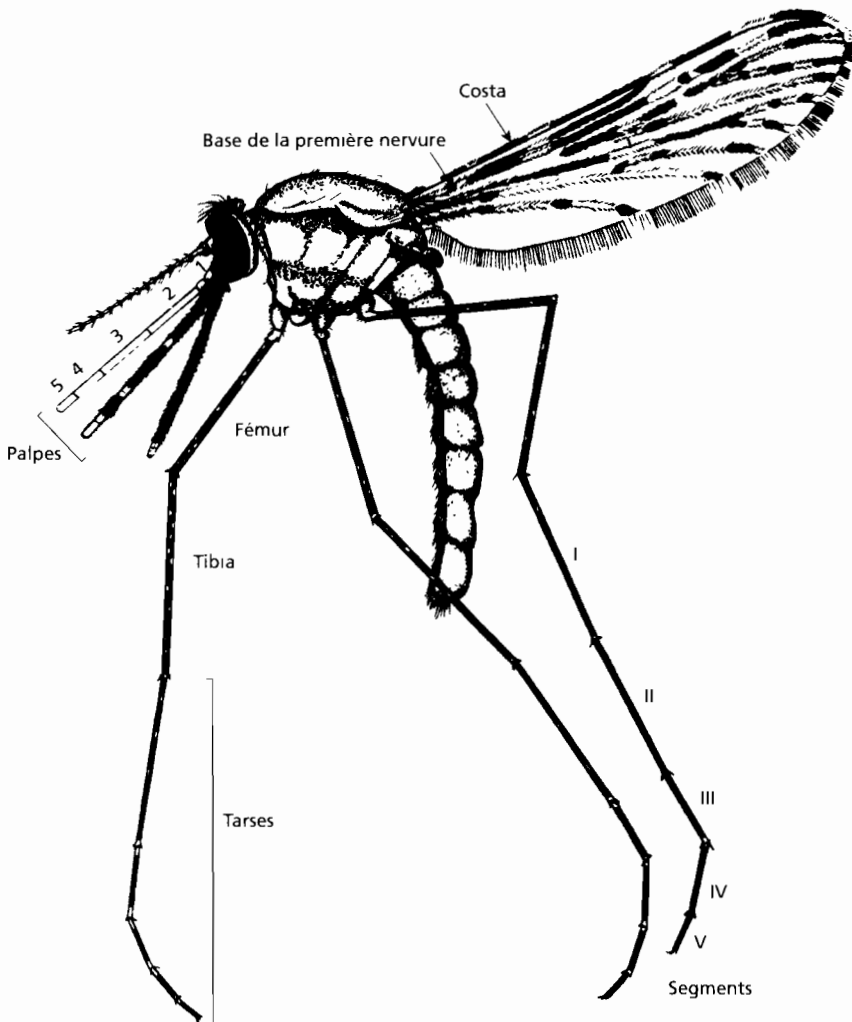


Figure 10.7 – Femelle d'anophèle.

La tête

La tête porte deux gros yeux composés formés de nombreuses ommatidies. Il n'y a pas d'œil simple (ou ocelle). Elle porte aussi une paire d'antennes avec un fort dimorphisme sexuel. Les mâles ont des antennes avec des soies longues et plumeuses, et les femelles ont des antennes avec des soies plus courtes et moins fournies. Chez les deux sexes, les antennes sont formées de 15 articles. L'ensemble des articles III à XV désigne le flagelle. Le deuxième article (ou pédicelle) recouvre complètement le premier et paraît faussement être le plus basal ; il est plus développé que les autres et contient l'organe de Johnston, un mécanorécepteur qui détecte les vibrations du flagelle induites par les sons. Les antennes des deux sexes comportent les organes récepteurs de l'olfaction, permettant la détection de nombreuses molécules odorantes et de phéromones, et des récepteurs de l'audition pour la perception de certaines vibrations. Les antennes des femelles portent également de nombreux chémorécepteurs olfactifs spécifiques, qui servent probablement pour le repérage et la localisation de l'hôte pour le repas de sang (CLEMENTS, 1999 ; RINKER *et al.*, 2013). La tête porte enfin un appareil buccal de type suceur pour les ♂, qui se nourrissent de jus sucré, de nectar de fleurs, de sève, etc., et de type vulnérant pour les ♀, qui se nourrissent comme les ♂ mais qui sont aussi hématophages.

Chez le ♂, les mandibules et les maxilles sont atrophiées, l'hypopharynx est soudé à la lèvre

inférieure, le tout formant un appareil buccal non vulnérant, incapable de pénétrer dans le tégument des vertébrés, et donc sans possibilité de prendre un repas de sang. Les palpes maxillaires sont plus longs que la trompe et ont leur partie distale renflée en massue.

Chez la ♀, la trompe, ou proboscis, est bien visible. C'est une structure complexe qui se compose d'un assemblage de nombreuses pièces (fig. 10.8 et 10.9) :

- un labium en position de lèvre inférieure, terminé par une paire de labelles. Au repos, il est replié en une gouttière fermée dorsalement autour de 6 stylets vulnérants, l'ensemble étant appelé fascicule. Les labelles jouent un rôle de guide pour le fascicule lors de son entrée dans la peau. Le labium est la seule pièce souple et également la seule à ne pas pénétrer dans la peau au moment de la piqûre ;
- un labre qui forme la partie supérieure du canal alimentaire par où le sang et éventuellement les *Plasmodium* sont ingérés grâce à une pompe alimentaire située au niveau du thorax ;
- une paire de mandibules, latérales, fins stylets dont les extrémités sont en forme de lame ;
- une paire de maxilles, également latérales, principaux organes perforants avec des denticules à leur extrémité pour percer l'épiderme et le derme, puis la paroi du canal sanguin. Chaque maxille porte à sa base un palpe maxillaire formé de 5 articles aussi longs que la trompe chez les Anophelinae (excepté dans le genre *Bironella*), alors qu'ils sont nettement

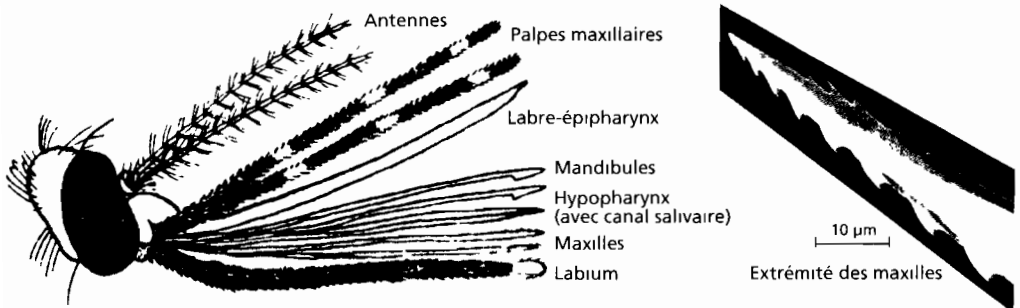


Figure 10.8 – Appendices céphaliques d'un anophèle femelle.

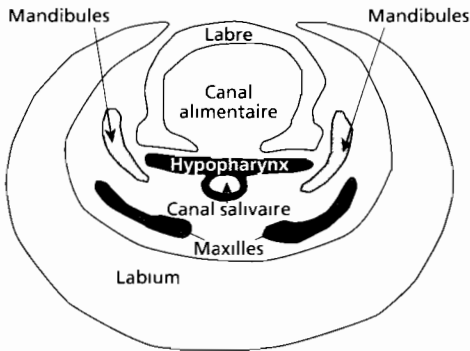


Figure 10.9 – Section de trompe d'un anophèle femelle.

plus courts que la trompe chez les femelles de Culicinae. Ces palpes portent de nombreuses écailles, sombres ou claires, et cette ornementation est utilisée pour la diagnose des espèces ;

- un hypopharynx qui sert de base au canal alimentaire ; il est percé sur toute sa longueur d'un fin canal salivaire par où sont injectés la salive et éventuellement les sporozoïtes des *Plasmodium*.

Le thorax

Le thorax est entièrement recouvert de nombreuses plaques sclérifiées. Il porte également de nombreuses soies, qui sont cependant peu utilisées en systématique. Le thorax est composé de 3 segments (pro-, méso- et métathorax) de tailles inégales. Il porte deux paires de stigmates latéraux (sur les méso- et métathorax), une paire d'ailes, une paire d'haltères (ou balanciers) et 3 paires de pattes. Chaque segment thoracique porte ventralement une paire de pattes, longues et fines, chacune formée de 9 parties successives articulées (arthropodes) : la hanche, le trochanter, le fémur, le tibia et les 5 articles du tarse, dont le dernier porte deux griffes terminales permettant au moustique de s'accrocher sur le support. Le mésothorax est le plus développé, c'est le segment alaire. Il comprend les muscles du vol et porte une paire d'ailes membraneuses généralement tachetées car recouvertes de touffes d'écailles sombres ou claires. Cette ornementation alaire caractéristique permet aisément de distinguer les anophèles des Culicinae. L'aile est maintenue et tendue par 6 nervures principales (costale,

sous-costale, radiale, médiane, cubitale, anale) et des nervures secondaires. Le bord d'attaque de l'aile est renforcé par une forte nervure costale soutenue par une nervure sous-costale. Le bord de fuite de l'aile présente une frange continue d'écailles saillantes, blanches ou noires, qui augmentent la surface portante. L'ornementation alaire est très utilisée pour la diagnose spécifique. Le métathorax porte une paire d'haltères, ailes vestigiales propres aux diptères et qui servent d'organe d'équilibration lors du vol.

La plaque dorsale postérieure au scutum est le scutellum. Il est unilobé et arrondi chez les anophèles des genres *Anopheles* et *Bironella*, alors qu'il est trilobé chez les *Anopheles* du genre *Chagasia* et chez les Culicinae.

L'abdomen

L'abdomen comprend 10 segments dont les 7 proximaux sont de structure classique et bien visibles, tandis que les 3 derniers sont modifiés pour les appareils génital et excréteur. L'abdomen porte ou non des écailles qui sont utilisées pour la détermination (avec, par exemple, la présence de « touffes latérales d'écailles saillantes » chez *An. pharoensis* et les espèces du sous-genre *Nyssorhynchus*).

Les 7 premiers segments sont comparables et composés de 2 plaques sclérifiées rigides : une dorsale (tergite) et une ventrale (sternite), maintenues par une membrane pleurale chitineuse souple qui va permettre à l'abdomen de se distendre lors de l'ingestion de jus sucrés (chez les deux sexes) ou de sang suivi de l'oogenèse (chez la ♀). C'est en effet dans l'abdomen que sont situés l'intestin moyen (= estomac) et les deux ovaires qui grossissent fortement au cours du cycle gonotrophique. Les stigmates respiratoires s'ouvrent au niveau de la membrane pleurale. Un trait caractéristique des anophèles est que les sternites abdominaux sont ordinairement dépourvus d'écailles.

Chez la ♀, le segment VIII est complet mais réduit, le segment IX « génital », portant le vagin, est modifié, se limitant à une petite plaque tergale à laquelle font suite les deux cerques dorsaux, sous lesquels s'ouvre l'anus

porté par le segment X. Vagin et anus sont séparés par une plaque vaginale bien visible, le vagin est fermé par deux lèvres.

Chez le ♂, peu après l'émergence, l'extrémité abdominale à partir du segment VIII inclus réalise une rotation de 180°, mouvement qui dure environ 24 heures et qui voit les tergites passer en position ventrale et les sternites en position dorsale. Cette rotation est achevée 36 heures après l'émergence chez *An. funestus* à 23 °C en insectarium ; sa vitesse est fonction de la température (DAHAN et KOEKEMOER, 2014). Dans cette configuration mature, l'intestin et le spermiducte se croisent au niveau du 8^e segment. Les 9^e et 10^e segments constituent l'hypopigium ou genitalia (genitalia est un terme toujours au pluriel), dont la morphologie est très complexe mais qui ne confère pas un bon critère de reconnaissance d'espèce chez les anophèles. À l'extrémité de l'abdomen, le ♂ porte des claspers également appelés forcipules, assimilables à des pinces qui lui permettent de s'arrimer à l'extrémité abdominale de la femelle lors de l'accouplement. Le pénis ou phallosome est situé en position centrale.

Au repos, les anophèles adoptent généralement une position oblique par rapport au support, ce qui les différencie des Culicinae qui se positionnent parallèlement au support. Les pattes postérieures sont ordinairement relevées, sans contact avec le support. Les adultes du genre *Chagasia* font exception parmi les anophèles et partagent avec les Culicinae une position de l'adulte au repos, avec un angle entre le thorax et l'abdomen.

Anatomie interne des adultes

L'anatomie interne des anophèles est typique de celle des insectes. Elle relève de plusieurs appareils.

L'appareil digestif

L'appareil digestif est composé de trois parties, antérieure, moyenne et postérieure. Les deux extrêmes étant d'origine ectodermique sont

recouvertes de cuticule. L'appareil digestif comprend successivement :

- le pharynx qui fait suite à la cavité buccale ; il joue un rôle de pompe pharyngienne qui permet l'absorption du sang ;
- l'intestin antérieur, ou œsophage, auxquels aboutissent les canaux des jabots ;
- un volumineux estomac, ou intestin moyen (*midgut* en anglais), dans lequel aboutissent le sang et/ou le sucre ingérés. Quelques heures après la réplétion de l'estomac, le bol alimentaire se retrouve confiné dans une enveloppe péritrophique semi-perméable, acellulaire et sécrétée par l'épithélium stomacal. C'est à l'intérieur de cette enveloppe, elle-même à l'intérieur de l'estomac, que s'effectue la digestion ;
- un intestin postérieur où cinq tubes de Malpighi débouchent à la jonction entre intestin moyen et postérieur et font office d'organes de filtration, comme les reins chez les mammifères. L'intestin postérieur se termine par le rectum et l'anus.

En position latéro-ventrale, au niveau du prothorax, sont situées les glandes salivaires (une paire de glandes trilobées) composées de deux longs lobes latéraux identiques et d'un lobe médian court (alors que les trois lobes sont longs et de taille identique chez les Culicinae). Le lobe médian et les lobes latéraux diffèrent par leurs structures histologiques et par la composition des sécrétions qui forment la salive. Le canal salivaire est revêtu de cuticule sur toute sa longueur jusque dans la portion proximale des lobes latéraux, mais pas dans la portion distale de ces lobes ni dans le lobe médian (WRIGHT, 1969). La salive est synthétisée par les lobes des glandes salivaires, elle est ensuite conduite à l'intérieur des canaux salivaires puis du tronc commun du canal salivaire pour être finalement inoculée à l'extrémité distale de l'hypopharynx. L'injection de salive est continue pendant toute la durée de la piqûre, et ce, dès l'insertion des stylets dans la peau du vertébré. La salive contient de nombreuses protéines douées de différentes fonctions, certaines empêchent la coagulation et l'agrégation des

plaquettes, d'autres ayant un rôle digestif (phosphatase, estérase, aminopeptidase, glycosidase) ou vasodilatateur (péroxydase) (FONTAINE *et al.*, 2011).

L'appareil génital de la femelle

L'appareil génital de la femelle est composé par une paire d'ovaires et d'oviductes, un oviducte commun, un vagin, une spermathèque et une glande annexe. Chaque ovaire est formé de près de 200 ovarioles qui débouchent radialement par le pédicule dans la partie de l'oviducte à l'intérieur de l'ovaire. Les oviductes des anophèles présentent une ampoule dans la portion proche de l'ovaire ; cette ampoule reste distendue en permanence après la première oviposition.

L'évolution des ovarioles se déroule en 5 stades (dits de CHRISTOPHERS, 1911) :

- stade I : le follicule est arrondi avec un oocyte bien visible en position distale et 7 cellules nourricières ;
- stade II : le follicule s'ovalise, le vitellus apparaît et occupe jusqu'à la moitié du follicule ; ce stade est souvent divisé en II début, II moyen (stade de repos, en attente d'un repas de sang) et II fin ;
- stade III : le follicule est de forme ovale et le vitellus occupe entre la moitié et les trois quarts du follicule ; ce stade est aussi souvent divisé en III début, III moyen et III fin (c'est à la fin de ce stade que les chromosomes polytènes des cellules nourricières sont bien visibles) ;
- stade IV : le vitellus occupe pratiquement tout le follicule (> 9/10) qui est de forme ovale ;
- stade V : présence d'une paire de flotteurs, le chorion recouvre entièrement l'œuf ; à la fin de ce stade, l'œuf est mature et prêt à être pondu.

MER (1936) distingue un stade supplémentaire N avant le stade I, le follicule est rond et constitué de 8 cellules indifférenciées, les ovaires sont à ce stade chez la nymphe (d'où le N) et souvent aussi lors de l'émergence. Cet auteur distingue également un stade intermédiaire I-II durant lequel des globules de vitellus se forment autour

du noyau pour constituer une sorte de couronne tandis que l'ovariole commence à s'ovaliser.

Chez la femelle néonate, l'ovaire est petit (1 mm) ; il grossit pendant le premier cycle gonotrophique pour atteindre 3 à 4 mm lorsque les œufs sont matures, puis il diminue de taille après la ponte sans toutefois atteindre une taille aussi petite qu'à la naissance.

Les ovaires sont pénétrés par un système trachéen très développé. Chez la femelle nullipare, les extrémités des fines trachées et trachéoles se présentent enroulées sous forme de « pelotes ». Ces pelotes se déroulent de façon irréversible pendant la croissance de l'ovaire au cours du premier cycle gonotrophique. Ainsi, la présence de trachéoles déroulées indique une femelle pare, sans que l'on puisse connaître le nombre de pontes que cette femelle a effectuées. Cette observation a permis à une entomologiste russe, Detinova, de mettre au point une méthode très communément utilisée de détermination de l'âge physiologique qui porte son nom et qui se base sur la détermination du taux de parturité (la proportion de femelles pares) dans une population de moustiques.

Il existe une méthode plus précise de détermination de l'âge physiologique de chaque femelle collectée, également due à une entomologiste russe, Polovodova, mais qui est très délicate à pratiquer et qui est de ce fait beaucoup moins employée. Elle consiste à dénombrer les dilatactions sur le pédicule des ovarioles, finement dilacérés ; le nombre maximum de dilatactions correspond au nombre de pontes déjà effectuées. On pensait initialement que chaque dilatation résultait d'une contraction du sac folliculaire. En fait, il semble plutôt que les dilatactions sont observées sur les ovarioles minoritaires qui échouent répétitivement à élaborer des œufs, chaque dilatation résultant de la résorption d'un œuf abortif non développé et non pondu.

La spermathèque (une seule chez les anophèles et jusqu'à 3 chez certains Culicinae) permet à la femelle de stocker et de conserver les spermatozoïdes fonctionnels acquis lors de l'accouplement. Lors de la ponte, les spermato-

zoïdes sont acheminés depuis la spermathèque, via le canal spermathéal dont le débouché est proche du vagin (DETINOVA, 1962). L'œuf, avant d'être libéré, est maintenu dans une position précise avec le micropyle du chorion juste en regard du débouché du canal spermathéal. C'est ainsi qu'un spermatozoïde provenant de la spermathèque pénètre par le micropyle et réalise à ce moment la fécondation de l'œuf au moment de la ponte.

L'appareil génital du mâle

L'appareil génital du mâle est composé par deux testicules avec leurs canaux déférents aboutissant à de volumineuses vésicules séminales basales munies de glandes accessoires qui stockent le sperme mature. Le nombre de spermatocystes et la proportion relative du réservoir de sperme dans les testicules sont corrélés à l'âge physiologique du mâle (HUHO *et al.*, 2006 ; SAWADOGO *et al.*, 2014). Ces structures paires aboutissent à un canal éjaculateur médian dont le débouché se situe à l'extrémité du pénis. Les substances sécrétées par les glandes accessoires sont transmises à la femelle lors de l'accouplement et provoquent chez elle un changement de comportement vers la recherche d'un hôte à piquer (DOTTORINI *et al.*, 2007).

Le système nerveux

Le système nerveux est composé d'un « cerveau » dorso-céphalique d'où partent deux cordons qui entourent l'œsophage et se réunissent ventralement. Ces cordons se prolongent par une double chaîne ventrale le long du corps du moustique avec, au niveau de chaque segment, des ganglions nerveux avec des nerfs qui innervent le segment correspondant.

Autres systèmes

Le système circulatoire est essentiellement composé d'un vaisseau pulsatile en position dorsale, également appelé aorte, dans lequel la circulation de l'hémolymphe est postéro-antérieure ; ce vaisseau dorsal est ouvert aux deux extrémités sur la cavité générale dans laquelle baignent tous les organes. Le fluide de la cavité générale

est de l'hémolymphe, qui n'est pas du sang puisqu'il est dépourvu d'éléments figurés à l'exception notable des hémocytes. L'hémolymphe transporte les substances nutritives et les déchets du catabolisme ; mais il ne joue aucun rôle dans le transport de l'oxygène.

Le système excréteur est composé de cinq tubes de Malpighi, régulièrement disposés sur la face externe de l'estomac. Comme chez la plupart des insectes, le produit ultime du catabolisme des composés azotés est l'urate, qui est éliminé avec d'autres substances non digérées via l'intestin postérieur et l'anus.

Le système endocrine est composé de plusieurs organes tels que les *corpora cardiaca*, *corpora allata* et autres glandes prothoraciques, situés dorsalement entre le prothorax et le cou. Les différentes hormones qui y sont synthétisées jouent un rôle crucial dans la régulation de la métamorphose et de diverses fonctions physiologiques liées notamment chez l'adulte à la reproduction.

Le système immunitaire des anophèles comporte classiquement deux composantes innées, humorale et cellulaire qui sont activées lors d'une infection. La réponse immune humorale inclut, d'une part, des réactions de mélanisation (encapsulation du pathogène dans une enveloppe de mélanine) et de coagulation et, d'autre part, la synthèse et l'expression d'une batterie de peptides antimicrobiens aux spécificités variées, de manière systémique (via le corps gras et les hémocytes) ou tissu-spécifique (cardia, estomac, glandes salivaires...). Les réponses cellulaires, médiées par les hémocytes circulant dans l'hémolymphe, incluent la phagocytose et l'encapsulation cellulaire. La voie prédominante qui sera mobilisée dépend du pathogène responsable de l'infection (bactérie, protozoaire, champignon, macroparasite). La réponse immunitaire des anophèles face aux *Plasmodium* a été particulièrement bien étudiée et fait l'objet de nombreuses revues régulièrement mises à jour (SEVERO et LEVASHINA, 2014).

Le système musculaire, présent pour assurer la fonctionnalité de toutes les articulations,

atteint un développement spectaculaire avec les muscles mésothoraciques reliés aux ailes pour le vol.

Le système trachéen assure l'apport d'oxygène et l'évacuation du CO₂ sous forme gazeuse au niveau des organes par un réseau arborescent de gros troncs trachéens et de petites trachéoles maintenues ouvertes par une structure interne rigide en spirale. Les trachées communiquent avec l'air extérieur au niveau des spiracles, ordinairement au nombre d'une paire par segment, le plus important étant le spiracle mésothoracique.

Le corps gras est essentiellement constitué d'adypocytes qui accumulent des réserves dans de volumineuses inclusions : des glucides (glycogène), des protéines et des lipides (triglycérides). Selon les signaux hormonaux qu'il reçoit, le corps gras synthétise, stocke ou libère dans l'hémolymphe de nombreuses molécules en relation avec la croissance, la métamorphose et la reproduction (vitellogenèse). Il joue également un rôle important dans la régulation de l'immunité.

Génomes et chromosomes

Le génome des anophèles est diploïde. Il est structuré en trois paires de chromosomes ($2n = 6$) incluant deux paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels ; il existe toutefois une exception pour *Chagasia bathana*, qui en possède 4 paires (KREUTZER, 1978). Les chromosomes sexuels sont hétéromorphes, avec un chromosome Y de très petite taille, à la différence des Culicinae (*Culex* et *Aedes*) chez qui ils sont homomorphes. Chez les anophèles, le mâle est le sexe hétérogamétique (XY) et la femelle est homogamétique (XX). Selon les espèces, la taille du génome oscille entre 130 et 280 millions de paires de bases (Mbp en anglais) (NEAFSEY *et al.*, 2015), ce qui est comparable à la taille du génome de la drosophile, mais très inférieur à la taille du génome des Culicinae (539 Mbp pour *Culex quinquefasciatus* et 1 300 Mbp pour *Aedes aegypti*).

Cytogénétique et génétique des populations d'anophèles

La possibilité d'observer directement les compléments chromosomiques sur les chromosomes polytènes présents dans les ovaires des femelles semi-gravidés et dans les glandes salivaires des larves de stade IV a facilité l'étude de l'organisation du génome et de sa dynamique évolutive chez les anophèles et a permis de mieux comprendre la structuration génétique des populations naturelles de vecteurs. Les premiers travaux de cytogénétique ont débuté dans les années 1950, mais c'est une trentaine d'années plus tard que les études développées par le groupe du Pr. Mario Coluzzi ont révélé l'importance des inversions chromosomiques dans l'adaptation locale et le comportement des populations du complexe Gambiae (COLUZZI *et al.*, 1979 ; 1985). Chaque inversion procède de l'individualisation d'un segment de chromosome, suivie d'une permutation des extrémités du segment, puis de la réinsertion du segment dans le génome, sans perte du matériel génétique. Chez les anophèles, la présence d'inversions péricentriques (le centromère est compris dans l'inversion) est extrêmement rare, contrairement aux inversions paracentriques qui sont très fréquentes. Si certaines de ces inversions, ou leur combinaison (qu'on désigne sous l'appellation d'arrangement chromosomique ou de karyotype), peuvent être diagnostiques d'espèce au sein des complexes, d'autres sont présentes en fréquences variables dans les populations naturelles de moustiques et peuvent alors servir de marqueurs moléculaires bi-alléliques (on définit, par convention, une orientation sauvage et une orientation inversée) pour des études de génétique des populations. La distribution des inversions présentes sur les chromosomes d'*An. gambiae* et d'*An. funestus* a ainsi été particulièrement étudiée à travers toute l'Afrique, révélant leur rôle moteur dans l'évolution de ces systèmes vectoriels (POMBI *et al.*, 2008 ; COSTANTINI *et al.*, 2009 ; AYALA *et al.*, 2014). En protégeant diverses associations de gènes de l'effet délétère de la recombinaison génétique, ces inversions semblent bien impliquées dans

les processus d'évolution des chromosomes sexuels, d'adaptation locale et de spéciation. La distribution non aléatoire de certains karyotypes dans les populations naturelles de moustiques, la corrélation observée sur le terrain entre la fréquence de certaines inversions et un gradient environnemental particulier comme l'aridité du milieu, mais aussi des études fonctionnelles associant karyotype et phénotype ont démontré la valeur sélective de différents arrangements chromosomiques. Chez *An. gambiae* et *An. funestus*, ces études ont abouti à la description de « races » ou « formes chromosomiques » à la biologie et au comportement contrastés, mais entre lesquelles l'échange de matériel génétique reste possible, dans des portions du génome moins exposées à la sélection naturelle.

Les études de génétique des populations développées ultérieurement, notamment avec l'utilisation des marqueurs microsatellites neutres choisis dans des régions non codantes du génome, ont confirmé cette plasticité du génome des anophèles, véritable mosaïque de régions plus ou moins exposées à la sélection naturelle et qui attestent de l'extraordinaire potentiel adaptatif de ces moustiques (WHITE *et al.*, 2011 ; FONTAINE *et al.*, 2015). Des études menées à l'échelle du continent africain ont par ailleurs mis en évidence l'existence de barrières aux flux de gènes et à la migration d'individus entre populations isolées du point de vue géographique (populations insulaires et continentales d'*An. gambiae* par exemple, impact de la Vallée du Rift ou du bloc forestier d'Afrique centrale sur les populations continentales) avec, en général, un faible effet de la distance géographique sur la structuration des populations de vecteurs dans les zones de savanes ouvertes et une plus forte structuration génétique en forêt (DONNELLY *et al.*, 2002 ; LEHMANN *et al.*, 2003 ; MICHEL *et al.*, 2005 ; NDO *et al.*, 2013).

Génomique et post-génomique

Comme cela a été le cas après la publication du génome humain, la parution en 2002 d'une première ébauche du génome d'*An. gambiae* a

révolutionné l'approche de la génétique des anophèles. Deuxième génome d'insecte à avoir été séquencé après celui de la drosophile, son annotation est constamment mise à jour et la version actuelle, *Agam P4.4* (18/10/2016) disponible sur le site de Vectorbase (www.vectorbase.org) — qui regroupe l'ensemble des données de génomique disponibles sur les arthropodes d'importance médicale — recense aujourd'hui 13 807 gènes et 15 677 transcrits pour une taille totale de génome de 278 Mpb. Cette manne de données moléculaires ainsi disponible a eu pour effet de stimuler les recherches, tant sur le plan fondamental et expérimental que sur des aspects populationnels.

De nombreuses données ont été générées, sur le polymorphisme moléculaire et la dynamique d'expression de nombreux gènes impliqués dans certains processus clés de la biologie des vecteurs : résistance aux insecticides, réponse immune face aux infections, résistance à la dessiccation... De nouvelles voies métaboliques sont mises au jour et le rôle spécifique des différents gènes candidats est précisé par des approches de génomique fonctionnelle (technique de l'interférence ARN par exemple). Avec le développement rapide des nouvelles techniques de séquençage à haut débit (*Next-Generation Sequencing*) et d'analyses bio-informatiques, de nouveaux génomes sont séquencés et deviennent disponibles. En 2014, 21 espèces d'*Anopheles* des 5 continents ont été séquencées, incluant les vecteurs majeurs de *Plasmodium* en Afrique, en Asie et en Amérique latine, et d'autres espèces d'anophèles non vectrices. Les premières études de génomique comparative mettent en évidence des particularités génétiques fortes, notamment un taux d'évolution moléculaire élevé par rapport à d'autres insectes (drosophile en particulier) et une plasticité importante du génome, avec de nombreux gains et pertes de gènes (ou de groupes entiers de gènes) au cours de l'évolution (NEAFSEY *et al.*, 2015). L'étude de ces différents groupes de gènes devrait maintenant permettre d'élucider les origines de l'anthropophilie et de la transmission d'agents pathogènes chez les anophèles.

BIOÉCOLOGIE ET COMPORTEMENT

Cycle de vie

Le cycle biologique des anophèles comprend deux phases :

- une phase aquatique pour les stades préimaginaux ou immatures (fig. 10.10 et 10.11) : œuf, larve (avec 4 stades larvaires entrecoupés chacun d'une mue) et nymphe ; les stades larvaires concernent une période de croissance avec une augmentation notable de taille qui peut être d'un facteur 10, du stade I au stade IV ; ce phénomène d'accroissement ne se retrouvera plus dans la phase ultérieure ;
- une phase aérienne pour le stade adulte ou imago, avec des mâles (♂) et des femelles (♀) (fig. 10.12). C'est la période de reproduction et



Figure 10.10 – Une mare en zone tropicale, site favorable au développement des stades aquatiques d'anophèles.

© IRD et Institut Pasteur de Madagascar/V. Robert



Figure 10.11 – Gîtes larvaires à moustiques, en particulier à *Anopheles arabiensis* dans la banlieue d'Antananarivo, Madagascar.

© IRD et Institut Pasteur de Madagascar/V. Robert

de dispersion. Le mâle se nourrit exclusivement de jus sucrés, tandis que la femelle s'alimente non seulement de jus sucrés qui procurent l'énergie nécessaire pour le vol mais aussi de sang humain et/ou animal qui permet le développement des ovaires. Chez les anophèles, seule la femelle est hématophage, et c'est au cours d'un repas de sang qu'elle peut ingérer et/ou transmettre le parasite.



Figure 10.12 – *Anopheles gambiae* femelle en train de prendre un repas de sang sur Homme.

© IRD/N. Rahola

Biologie des stades aquatiques

L'œuf

Une ponte d'anophèle est composée de 50 à 300 œufs qui sont pondus isolément, en vol, à la surface de l'eau.

La durée du développement embryonnaire est dépendante de la température, de 2,5 jours à 25 °C à 7 jours à 16 °C pour *An. minimus* et, pour *An. quadrimaculatus*, 38 heures à 28 °C, 54-58 heures à 23 °C, 109 heures à 18 °C et 358-368 heures à 12 °C.

Les œufs d'anophèles ne résistent généralement pas à la dessiccation et éclosent dans les 48 heures après l'oviposition, dès que l'embryon est entièrement développé. Des œufs d'*An. gambiae* maintenus sur substrats secs montrent une réduction du pourcentage d'éclosion, de 78-83 % le premier jour à 20-23 % le cinquième jour.

En condition humide, la viabilité des œufs est nettement augmentée. Des œufs d'*An. gambiae* et d'*An. funestus* maintenus en condition humide pouvaient éclore respectivement 12 et 10 jours après la ponte. Et des œufs d'*An. punctulatus* et d'*An. farauti* restaient viables 14 jours sur une surface humide (au laboratoire) avec une éclosion rapide dès leur mise en eau. Des éclosions d'œufs d'*An. claviger* à 20 °C ont été observées pendant 6 semaines.

Chez *An. anthropophagus* (synonyme d'*An. lesteri*, voir HARBACH, 2004) en Chine centrale, il peut y avoir une diapause des œufs, qui sont pondus à la surface de l'eau en automne et éclosent au printemps suivant. Chez *An. walkeri*, aux États-Unis, il peut y avoir deux types d'œufs (morphologiquement et physiologiquement différents) : ceux pondus en été éclosent en quelques jours, tandis que les œufs pondus en hiver éclosent seulement au printemps suivant (toutes les références des travaux présentés ici sont disponibles in CARNEVALE *et al.*, 2009).

La larve

Au cours de son développement, la larve effectue 3 mues et passe ainsi par 4 stades larvaires morphologiquement comparables ; la mue qui

survient entre chaque stade est associée à l'accroissement de la taille de la larve pendant que la nouvelle cuticule durcit.

Pour que la larve s'alimente, sa tête opère une rotation de 180° autour du cou et la bouche se positionne au contact de la surface de l'eau ; les brosses buccales brassent alors l'eau et filtrent les particules alimentaires (levures, bactéries, micro-planctons, micro-algues, grains de pollen, etc.) qui, si elles sont sélectionnées, sont alors broyées entre les mandibules et le labiohy-popharynx, puis ingérées via la cavité buccale. Lorsque la larve ne s'alimente pas, la tête se tourne de nouveau et reprend sa position initiale, bouche orientée vers le bas. Ainsi, la larve d'anophèle s'alimente principalement en surface (= *surface feeder*), alors que ce n'est pas le cas pour les moustiques de la sous-famille Culicinae, qui s'alimentent dans la colonne d'eau ou au fond du gîte.

Les larves d'anophèles vivent dans l'eau, mais elles respirent l'air atmosphérique qui pénètre dans leur organisme via une paire de spiracles situés dorsalement sur le segment abdominal VIII, puis via le système trachéen. Toutefois, l'oxygène dissous dans l'eau du gîte est aussi absorbé directement à travers la cuticule. Généralement, le type de gîte larvaire se caractérise selon sa teneur en sels, différenciant en particulier les gîtes d'eau douce et d'eau saumâtre. La majorité des espèces d'anophèles vivent en eau douce. Cependant, la tolérance à la salinité peut être forte ; par exemple, *An. merus* peut survivre à une concentration de 46 % d'eau de mer (LC₅₀, WHITE *et al.*, 2013). Un nouveau phénomène d'adaptation à l'eau polluée est en train de se mettre en place dans les contextes urbains ; certaines populations du vecteur *An. coluzzii* ont développé une tolérance à l'ammoniac (principal polluant des gîtes aquatiques urbains) qui permet de coloniser les gîtes des grandes villes d'Afrique centrale (TENE FOSSOG *et al.*, 2013).

La durée de vie larvaire est d'une à deux semaines selon les espèces et les conditions écologiques (dont la température), mais elle est

augmentée dans le cas d'hibernation qui peut s'effectuer à l'état larvaire en zones tempérées, chez *An. claviger* et *An. plumbeus* par exemple. Le développement larvaire est plus rapide chez les mâles, qui se nymphosent une journée avant les femelles. La résistance des larves à la dessiccation est nulle ou très faible. Le pourcentage d'émergence peut aller jusqu'à 20 % (AWONO-AMBENE et ROBERT, 1999), et il peut être affecté par de nombreux facteurs, comme le type de gîte, la compétition pour les ressources, la densité, la flore bactérienne, les prédateurs, etc. Parmi les prédateurs les plus courants figurent d'autres espèces de Culicidae (larves de *Lutzia tigripes* ou parfois de *Toxorhynchites* spp.), des insectes (hémiptères, odonates et coléoptères) ou des petits poissons (*Gambusia* spp.). Certains de ces prédateurs ont été utilisés comme des acteurs de lutte biologique contre les larves d'*Anopheles*.

La nymphe

La nymphe représente le dernier stade de la phase aquatique. Elle fait l'objet de remaniements internes très importants au cours de la métamorphose qui permet la transformation en adulte. Les organes propres à la larve se détruisent alors qu'apparaissent les organes propres à l'adulte. En fin de nymphose, le corps du futur adulte est bien visible à travers la cuticule transparente, notamment la tête avec les yeux, les pattes et les ailes, toutes ces structures n'existant pas chez la larve (fig. 10.6).

Légèrement moins dense que l'eau, la nymphe reste au repos au contact de la surface de l'eau. Elle est mobile grâce à des contractions brusques de son abdomen qui lui permettent de se déplacer efficacement, plus rapidement que la larve. La durée de vie de la nymphe, variable selon la température, est de l'ordre de un à deux jours, rarement plus (3-5 jours maximum). Les nymphes mâles (♂) se développent plus rapidement que les ♀ et sont plus petites. La nymphe a une respiration aérienne ; elle utilise l'oxygène de l'air atmosphérique. Mais elle ne s'alimente pas ; de ce fait, elle n'est donc pas affectée par les insecticides d'ingestion de type *Bacillus thuringiensis*.

Au moment de l'émergence, la nymphe mature se positionne à la surface de l'eau, une suture ecdysiale médiane située sur la face dorsale du thorax se fend et laisse sortir l'adulte de l'exuvie nymphale et donc de l'eau. Cette émergence dure quelques minutes. C'est une phase spectaculaire et délicate de la vie du moustique, alors exposé aux risques des prédateurs comme des moindres mouvements d'air ou d'eau qui peuvent entraîner la noyade (ce qui est un comble après une existence jusqu'alors entièrement aquatique).

Biologie des adultes mâles et femelles

L'émergence de l'adulte se produit pendant la nuit, elle dure environ 15 minutes. C'est un moment crucial dans la vie d'un moustique, car il est très vulnérable aux prédateurs et/ou altérations du gîte et environnementales. Le moustique adulte (mâle et femelle) fait un premier vol court, afin d'atteindre un endroit sûr où il peut attendre que la cuticule et ses ailes sèchent, et les muscles prennent force pour le vol. L'adulte sera prêt pour voler normalement en une heure environ.

Repas sucré des deux sexes

Les adultes des deux sexes ne boivent pas d'eau (sauf à l'émergence), mais prennent régulièrement des repas de liquides sucrés sur divers végétaux, pendant toute leur vie imaginaire, incluant des nectars floraux et divers exsudats de fruits ou d'autres parties de la plante sur nombre d'espèces végétales. Ces apports nutritifs en sucres sont indispensables aux mâles, car ils constituent pour eux l'unique source d'énergie, en particulier pour le vol. Des études récentes montrent qu'*An. arabiensis* manifeste une nette préférence pour les plantes qui procurent les meilleures ressources nutritives (GOUAGNA *et al.*, 2014). Une autre étude montre que l'infection à *Plasmodium falciparum* augmente l'attraction pour les nectars floraux chez les femelles d'*An. gambiae*, avec un impact positif sur le développement du parasite (NYASEMBE *et al.*, 2014).

La salive de la femelle

Chez la ♀, la salive est impliquée dans les deux phénomènes liés à la piqûre du moustique : le repas sanguin et la transmission de pathogènes. Les protéines salivaires sont libérées dans le derme de l'hôte et participent activement aux relations homme/vecteur, notamment en inhibant la réaction hémostatique et la réaction immunitaire de l'hôte engendrées par la piqûre. Les propriétés pharmacologiques de la salive du moustique concernent les trois mécanismes principaux de la réaction hémostatique de l'hôte. En effet, les protéines salivaires agissent comme des inhibiteurs de l'agrégation des plaquettes, comme des vasodilatateurs et comme des inhibiteurs de la coagulation sanguine. L'enzyme apyrase, qui hydrolyse l'ATP et l'ADP, représente l'inhibiteur majeur de l'agrégation plaquettaire et semble exprimée chez l'ensemble des arthropodes hématophages. L'activité vasodilatatrice implique les protéines tachykinines et catéchol oxydase/péroxydase et un inhibiteur de la thrombine a été identifié chez les *Anopheles* comme inhibiteur de la coagulation.

L'identification de toutes les protéines exprimées dans la salive de moustique (ou « sialome ») représente actuellement une approche prometteuse de l'étude des relations homme-vecteur. Des bases de données de gènes exprimant des protéines susceptibles d'être sécrétées au moment de la piqûre ont été mises à disposition, même si la fonction de nombreuses protéines reste putative ou inconnue. Dans la continuité de cette caractérisation du sialome, des recherches sont en cours pour évaluer leur rôle dans l'immunomodulation locale chez l'hôte mammifère et dans la transmission des *Plasmodium* (toutes les références des travaux présentés ici sont disponibles in CARNEVALE *et al.*, 2009).

L'accouplement

Dans les jours qui suivent l'émergence, soit au début de leur vie aérienne, les femelles rejoignent un essaim de mâles (fig. 10.13). Un essaim se forme ordinairement au crépuscule dans un environnement repérable et étonnamment constant d'un crépuscule à l'autre, et même

d'une année à l'autre. Ce peut être au-dessus d'un puits, au-dessus d'un buisson caractéristique, dans une cour d'habitation, au-dessus d'une maison, etc. (SAWADOGO *et al.*, 2014). La mise en place d'un essaim est observée à heure étonnement fixe par rapport au coucher du soleil, $3,41 \pm 0,256$ min après pour *An. coluzzii* et $6,76 \pm 0,256$ min après pour *An. gambiae* au Burkina Faso. Un essaim est ordinairement monospécifique, mais il existe des exceptions, notamment avec des essaims formés de mâles de deux espèces très proches, *An. gambiae* et *An. coluzzii* (DABIRÉ *et al.*, 2013). Il peut être constitué par quelques mâles ou en compter jusqu'à près de 2 000. La taille optimale d'un essaim semble de 600 à 1 200 mâles eu égard à leur recrutement de femelles entrantes. Les mâles décrivent des vols en boucle, ascendants dans la colonne centrale, et descendants en périphérie. Il est probable que la femelle entrant dans un essaim soit détectée par la fréquence sonore émise par le battement de ses ailes en vol, fréquence nettement plus basse que celle des mâles (les femelles sont généralement plus grandes que les mâles).

La rencontre des sexes se fait dans l'essaim, mais l'accouplement proprement dit, effectué ventre à ventre, se réalise ordinairement au sol, à proximité de l'essaim, une fois que les genitalia des deux partenaires se sont correctement arrimées. L'insémination dure en moyenne 17 secondes (in CLEMENTS, 1999). Le mâle dépose dans le tractus femelle un mélange de sperme et de sécrétions des glandes accessoires qui vont stimuler l'ovogenèse chez la femelle et induire chez elle la mise en place d'un comportement d'évitement d'accouplement ultérieur (TRIPET *et al.*, 2003 ; SHUTT *et al.*, 2010). Chez *An. gambiae*, ces sécrétions coagulent dans le tractus femelle, formant un bouchon de fécondation (= *mating plug* en anglais) qui disparaît en un à deux jours. Les spermatozoïdes migrent rapidement dans la spermathèque où ils sont stockés vivants, manifestement dans des conditions qui leur sont favorables puisqu'ils gardent leur pouvoir fécondant pendant toute la durée de vie de la femelle. La grande majorité des femelles s'accouplent



Figure 10.13 – Essaim d'*Anopheles melas* au Sud-Bénin.
Sur cette image prise au flash, les moustiques mâles apparaissent en blanc.
Ils volent contre le vent, dans l'attente d'une rencontre avec une femelle.

© IRD/V. Robert

une seule fois, mais des inséminations multiples ont cependant été démontrées par analyses génétiques des spermatozoïdes stockés dans la spermathèque. Les mâles, quant à eux, peuvent s'accoupler plusieurs fois dans leur vie, avec une période optimale d'activité sexuelle entre 4 et 8 jours après émergence chez *An. gambiae* en conditions de laboratoire (SAWADOGO *et al.*, 2014). Les spermatozoïdes stockés dans la spermathèque sont requis pour la fécondation des œufs au moment de la ponte. Accouplement et fécondation sont donc nettement dissociés dans le temps, parfois de près d'un an. Dans les savanes humides d'Afrique de l'Ouest, BRENGUES et COZ (1973) ont observé que l'accouplement est majoritairement réalisé au soir du deuxième jour de la vie imaginaire, avant le premier repas de sang chez *An. funestus*, et après ce repas chez *An. gambiae s.l.*

Repas de sang et préférence trophique

Le repas de sang des anophèles est crépusculaire ou nocturne. Mais il y a des exceptions, notamment des espèces du sous-genre *Kerteszia* en forêt dense qui piquent pendant la journée.

Selon les espèces anophéliennes, certaines ont une préférence marquée pour prendre leur repas de sang sur l'Homme (elles sont alors dites anthropophiles), d'autres piquent de manière opportuniste l'Homme ou d'autres vertébrés de son entourage. Évidemment, les espèces les plus anthropophiles sont meilleurs vecteurs. Selon que les femelles piquent à l'intérieur ou à l'extérieur des habitations, elles sont respectivement dites endo- ou exophages.

Quoique la plupart des études aient été conduites au voisinage des habitations humaines, il semble que les anophèles expriment une nette préférence

pour les mammifères, principalement les grands mammifères (Homme, bovins). En forêt, où la diversité d'hôtes potentiels est importante, les anophèles deviennent plus généralistes et les femelles peuvent piquer plusieurs espèces de mammifères (PAUPY *et al.*, 2013). Par exemple, *An. durenti* en galerie forestière d'Afrique centrale (vecteur de *Plasmodium berghei*) se gorge volontiers sur des rongeurs sauvages. L'ornithophilie des Anophelinae est faible, contrairement à celle de nombreuses espèces de Culicinae.

Le repas multiple (plus d'un repas de sang pendant un cycle gonotrophique) est aussi observé chez les anophèles. Le pourcentage des repas multiples varie selon l'espèce mais aussi selon le cycle gonotrophique (chez la femelle nullipare, la probabilité d'un repas multiple est plus importante).

Le cycle gonotrophique

Le comportement des femelles est dominé par la réalisation de plusieurs cycles gonotrophiques dont la finalité consiste à se nourrir et se reproduire. Chaque cycle est successivement ponctué par la recherche d'un hôte vertébré, la prise d'un repas de sang (rarement plusieurs), la digestion du sang accompagnée de la maturation des œufs et, une fois la femelle devenue gravide, la recherche d'un site de ponte suivie de l'oviposition. À ce stade, un nouveau cycle recommence. Selon la disponibilité des hôtes et des sites de ponte, ainsi que des conditions environnementales, chaque cycle gonotrophique dure de deux à quelques jours. La longévité moyenne des femelles anophèles étant estimée à 3 ou 4 semaines, les femelles peuvent effectuer au cours de leur vie jusqu'à une dizaine de cycles gonotrophiques, qui sont autant d'occasions de participer à la transmission vectorielle (en ingérant ou en injectant des agents infectieux lors du repas de sang). Ce cycle est parfois dénommé trophogonique par certains auteurs, qui arguent de l'antériorité de la prise de repas de sang (tropho-) sur le développement ovarien (-gonique). Ce cycle est divisé en trois phases.

Phase 1 : recherche et choix de l'hôte vertébré par l'anophèle femelle à jeun

Le comportement de recherche de l'hôte se décrit selon les phases d'activation, d'orientation puis du contact avec l'hôte. L'activation des anophèles femelles répond à un stimulus visuel (mouvement d'un hôte vertébré par exemple) ou olfactif (augmentation de la concentration en dioxyde de carbone notamment), mais elle dépend aussi des rythmes circadiens endogènes, avec une réponse quasi nulle aux stimuli pendant la journée et beaucoup plus sensible pendant la nuit. La femelle s'oriente ensuite vers l'hôte en suivant le flux d'odeurs depuis quelques dizaines de mètres, odeurs détectées par des chimiorécepteurs principalement antennaires (TAKKEN et VERHULST, 2012 ; POTTER, 2014). Les distances parcourues depuis le site d'émergence peuvent pourtant atteindre des centaines de mètres, voire quelques kilomètres, mais ce parcours ne ciblerait pas nécessairement tel ou tel hôte identifié dès le début du vol ; il pourrait être aléatoire, ou orienté plus ou moins perpendiculairement par rapport au vent. Le dioxyde de carbone émis par l'hôte serait le premier stimulus détecté puis, à une distance plus proche de l'hôte, des composés organiques volatiles plus caractéristiques de l'espèce peuvent affecter le choix de la femelle, ainsi que la chaleur et l'humidité émise par le vertébré. Arrivée au contact de l'hôte, la femelle effectue un repas qui est le plus souvent complet et qui permettra la maturation des œufs, mais s'il est interrompu ou insuffisant, elle le complétera soit dans les heures qui suivent, soit une nuit suivante. Selon les espèces anophéliennes, l'activité maximale de piqûre est observée en début de nuit (par exemple *An. pharoensis* et *An. squamosus*) ou dans la seconde moitié de la nuit (par exemple, *An. gambiae* et *An. funestus*). Mais ces comportements semblent modulables, puisque *An. gambiae* pique maintenant au moins jusqu'à 11 heures du matin dans les maisons du village de Dielmo, désormais sous moustiquaires imprégnées (SOUGOUFARA *et al.*, 2014) ; ceci expliquant probablement cela.

Le comportement de recherche de l'hôte et de piqûre peut être perturbé par le statut infecté et/ou infectant des moustiques, avec une augmentation de l'activation ou de la persistance dans l'intention d'une prise de repas de sang face au comportement défensif de l'hôte. Dans le système *Anopheles gambiae/Plasmodium falciparum*, les femelles infectées par les formes infectieuses de parasites pour l'Homme (sporozoïtes dans les glandes salivaires) interrompent plus souvent leur repas. Cela peut être dû à une réduction de l'activité de l'enzyme apyrase chez les moustiques infectants alors que celle-ci joue un rôle d'anticoagulant. Le moustique multiplie alors les piqûres pour compléter le volume du repas de sang, ce qui a pour conséquence d'augmenter le nombre et le risque d'inoculations des parasites à l'Homme.

Phase 2 :
repos pour la digestion du sang
et la maturation des œufs

Après un repas de sang, la femelle gorgée recherche un gîte de repos. Il peut s'agir de l'intérieur d'habitations humaines, l'espèce est alors dite endophile (fig. 10.14), ou de sites à l'extérieur et l'espèce est dite exophile. Pendant la phase de repos, le sang est digéré et les follicules ovariens se développent. Au fur et à mesure de

l'avancée de cette phase qui est la plus longue du cycle gonotrophique, le volume de l'estomac diminue alors que celui des ovaires augmente jusqu'à ce que les œufs soient prêts à être pondus. Le déroulement de cette partie du cycle gonotrophique dépend du statut physiologique de la femelle. Si la femelle est nullipare, le premier repas de sang est habituellement incomplet et ne permet pas l'achèvement du développement des œufs ; la femelle passe par une phase prégravidé qui nécessite un autre repas complet de sang pris une ou deux nuits plus tard pour achever le développement d'une ponte. Si la femelle est paré, le repas de sang est complet et suffit pour que l'anophèle passe successivement par les stades gorgé, semi-gravidé puis gravidé, selon une stricte concordance gonotrophique puisque chaque repas de sang est suivi par une ponte.

À de rares exceptions près, les anophèles sont largement anautogènes ; en absence de repas de sang, ils sont incapables de développer des œufs, même en petit nombre. L'espèce australasienne d'eau saumâtre *An. hilli* fait exception car elle est autogène ; une colonie a pu être maintenue en insectarium sans aucun repas de sang pendant des années. Par ailleurs, cette espèce se gorge sur de nombreux hôtes vertébrés et est vecteur secondaire de *Plasmodium* d'Homme (SWEENEY et RUSSELL, 1973).



Figure 10.14 – Capture d'anophèles endophiles : la pose de draps au sol (à gauche) est suivie d'une aspersion d'insecticide à action rapide, comme un pyrétrinoïde ; puis les moustiques inertes sont collectés (à droite).

© IRD et institut Pasteur de Madagascar/V. Robert

Phase 3 :
recherche du site de ponte et oviposition
par l'anophèle femelle gravide

À ce stade, la femelle cherche un site de ponte. Chez *An. gambiae*, une ponte est ordinairement constituée d'environ 150 œufs, mais la fécondité diminue avec l'âge. Les gîtes dans lesquels se développent les larves sont très caractéristiques des espèces, ils peuvent être constitués d'eau douce ou saumâtre, exposés au soleil ou abrités, permanents ou temporaires, chargés de débris végétaux ou composés d'eau claire. La femelle effectue en vol une sorte de danse de ponte. Elle met en contact l'extrémité de ses pattes et l'eau du gîte ; les chémorécepteurs des tarsi lui fournissent des informations pour apprécier la qualité du gîte. Lors de la ponte, l'œuf quitte l'ovariole, passe par le pédicule, puis par l'oviducte interne, l'oviducte commun, le vagin et il est expulsé par les contractions de la femelle, ordinairement en vol. Lors de la première ponte, la femelle passe du stade nullipare au stade pare. La femelle qui vient de pondre présente un sac folliculaire ouvert dans chaque ovariole qui contenait un œuf ; ce sac met une journée pour se refermer. L'observation de l'état de ces sacs (ouverts, en cours de rétractation, fermés) permet de préciser le délai écoulé entre la ponte et la prise de repas de sang chez les femelles pares. La ponte est habituellement effectuée au cours de la première moitié de la nuit. Elle dure une trentaine de minutes.

Diapause et dormance

La plupart des espèces anophélienne subissent une saison défavorable, froide en zone tempérée ou sèche en zone aride. Les mécanismes pour survivre à ces conditions sont encore mal connus, mais des phénomènes de diapause (à déterminisme génétique) ou de dormance (à déterminisme environnemental) ont été observés à de nombreuses reprises. Ces périodes à métabolisme ralenti permettent de résister à des conditions hostiles et de survivre parfois plusieurs mois. Ainsi, dans les régions tempérées, les femelles inséminées hibernent, comme *An. messeae* en Europe du Nord qui passe l'hiver sans s'alimenter,

en puisant dans les ressources stockées dans le corps gras. Au Mali, les femelles d'*An. arabiensis* et *An. gambiae* semblent effectuer une migration vers le sud pendant la saison sèche, contrairement aux femelles d'*An. coluzzii* qui ont la faculté de se mettre en discordance gonotrophique, c'est-à-dire qu'elles ingèrent un repas de sang de temps en temps mais ne produisent pas d'œufs jusqu'au retour de conditions plus favorables (DAO *et al.*, 2014). Elles stockent alors des métabolites dans leur corps gras et ont une activité quasi nulle, réorientant leur métabolisme vers l'accroissement de la longévité plus que vers de vaines tentatives d'accomplissement de la reproduction.

LEHMANN *et al.* (2010, 2014) ont démontré, à partir d'expériences de capture-marquage-lâcher-recapture réalisées au Sahel malien, que des femelles du complexe *Gambiae* sont capables d'estiver pendant au moins les 7 mois de saison sèche. Contrairement à ce qui était supposé, il ne semble pas que cette estivation passe par un accroissement des réserves lipidiques stockées dans le corps gras.

Déplacements et risques invasifs
des anophèles

La distance de dispersion d'un anophèle est de l'ordre de 3 km par génération, sa capacité de vol ne lui permettant pas de couvrir de grandes distances par ses propres moyens. En revanche, un transport passif autorise le parcours de longues distances, grâce à l'assistance du vent ou de divers moyens de transport (avion, bateau, voiture...). Les œufs des anophèles résistent très mal à la dessiccation, le transport passif s'effectue principalement au stade adulte, ce qui diminue leur potentiel invasif. Les anophèles sont beaucoup moins impliqués dans des invasions que les espèces d'*Aedes* ou de *Culex*, car ils sont peu adaptés aux habitats larvaires artificiels et aux zones urbaines.

Cependant, la réduction du temps de déplacement par des bateaux rapides ou par avion a entraîné le transport des anophèles, provoquant des cas d'invasion suivis de colonisation. Le cas le plus célèbre est celui de l'introduction

d'*An. arabiensis* (PARMAKELIS *et al.* 2008) en 1930 à Natal (Brésil), où les conditions environnementales sont proches de celles de la région d'origine (Sénégal). L'espèce a progressivement envahi la partie nord-est du Brésil jusqu'à couvrir 54 000 km² en 10 ans, avec pour conséquence l'augmentation de la morbidité et de la mortalité par paludisme, avec au total 16 000 décès (SOPER et WILSON, 1943). Le paludisme était déjà endémique au Brésil, mais les vecteurs locaux n'étaient pas aussi efficaces que ce vecteur africain dans la transmission du parasite, *P. falciparum*. En riposte, l'organisation militaire américaine du programme de lutte antivectorielle, en combinant la suppression des habitats larvaires et l'utilisation du Vert-de-Paris (acétoarsénite de cuivre) dans les gîtes, a réussi à éliminer *An. arabiensis* du Brésil 10 ans après le début de l'invasion (KILLEEN *et al.*, 2002).

Avec l'ère aéronautique, le temps de déplacement a été tellement réduit qu'en moins de deux jours un insecte est capable d'atteindre en avion presque n'importe quel point du globe, tout comme une personne infectée. Ce transport aérien d'anophèles infectés peut expliquer le « paludisme d'aéroport » : des personnes vivant à proximité d'aéroports internationaux et n'ayant jamais voyagé en zone à risque de paludisme peuvent devenir infectées par transmission vectorielle autochtone. En Europe de l'Ouest, le risque le plus élevé provient de l'Afrique de l'Ouest et centrale, zone de forte endémie fréquemment desservie par les liaisons aériennes. Parmi les nombreuses espèces d'anophèles trouvées dans ces aéroports internationaux, les vecteurs majeurs que sont *An. gambiae* et *An. arabiensis* sont fréquemment identifiés en période estivale (juillet-août), car les conditions climatiques coïncident avec celles de leur région d'origine (MOUCHET, 2000). On estime qu'un anophèle tropical infecté a de très faibles chances de s'implanter durablement en climat tempéré, avec un hiver marqué, est défavorable à son développement.

Les changements climatiques pourraient toutefois augmenter le risque d'invasion des vecteurs – même si celui-ci reste faible pour les anophèles

tropicaux – et avec eux la propagation de maladies à transmission vectorielle, même sous climat tempéré (TATEM *et al.*, 2006). Avec l'augmentation de la population humaine, l'urbanisation et les changements environnementaux s'accroissent à un rythme très rapide. Certaines modifications écologiques, comme le développement de l'irrigation ou la déforestation, participent à l'augmentation du paludisme, comme démontré en Afrique. Une forêt est un milieu clos qui favorise certains vecteurs majeurs, tel *An. dirus* en Asie ou *An. moucheti* en Afrique, mais le déboisement pour étendre les terres cultivées favorise le développement de vecteurs héliophiles comme *An. harrisoni* (complexe *Minimus*) en Asie du Sud-Est ou *An. gambiae* en Afrique. Les barrages, les fossés d'irrigation, les rizières et les fosses d'emprunt pour la fabrication de briques constituent autant d'habitats larvaires favorables à des vecteurs majeurs comme *An. minimus* en Asie, *An. gambiae* et *An. arabiensis* en Afrique. Dans les hautes terres d'Afrique centrale, les marais naturels de papyrus, plante qui produit une couche d'huile à la surface de l'eau inhibant le développement des larves d'anophèles, ont largement été remplacés par les cultures vivrières et les bassins de pisciculture qui offrent des habitats favorables aux anophèles. Ce changement écologique, associé à de fortes pluies, a conduit à la propagation rapide d'*An. gambiae* qui, en 1994, fut à l'origine d'une épidémie de paludisme dans une région de l'Ouganda située au-dessus de 1 500 mètres d'altitude, considérée jusque-là comme exempte de paludisme (MOUCHET *et al.*, 2004).

Distribution des principaux vecteurs

Il n'existe pas d'espèce d'anophèles à répartition mondiale, ni même couvrant la totalité d'un continent (tabl. 10.1). La dépendance aux conditions climatiques est marquée, et tout au plus seules certaines espèces anophéliennes réussissent à coloniser une large portion d'une zone biogéographique donnée. À titre d'exemple, *An. darlingi* est observé en Amérique du Sud tropicale à l'est des Andes et *An. funestus* dans

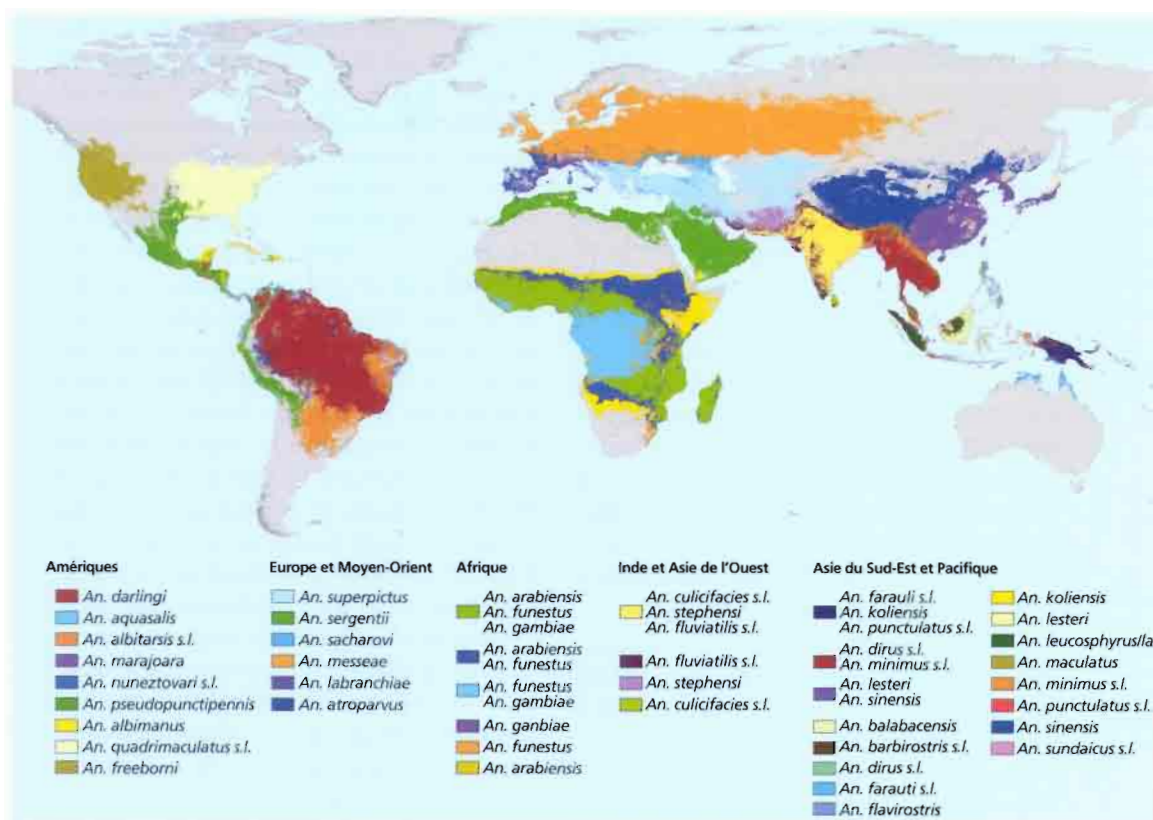


Figure 10.15 – Carte de distribution des principaux vecteurs de *Plasmodium* de l'Homme dans le monde. Source : Malaria Atlas Project.

toute l'Afrique intertropicale. Mais la majorité des espèces anophéliennes présentent une distribution beaucoup plus limitée : *An. bwambae* est connu d'une unique forêt en Ouganda, *An. takasagoensis* à Taiwan, *An. koliensis* en Nouvelle-Guinée et aux îles Salomon, *An. freeborni* dans l'ouest des États-Unis, etc.

On trouvera des cartes de distribution des principaux vecteurs anophéliens in CARNEVALE *et al.* (2009), in www.map.ox.ac.uk et <https://www.mpl.ird.fr/suds-en-ligne/paludisme/systemes/biogeographie03.html> (fig. 10.15).

Dans une localité en zone d'endémie palustre, la transmission des *Plasmodium* est le plus souvent le fait de plusieurs espèces anophéliennes, et non pas seulement une. À titre d'exemple,

un pays comme le Cameroun héberge dix-sept espèces anophéliennes vectrices, majeures ou secondaires (AYALA *et al.*, 2009). Ces espèces ont chacune des traits de vie différents, plus ou moins anthropophiles ou endophiles, avec différentes dynamiques de densité selon les saisons. Elles sont donc susceptibles d'éviter tel ou tel traitement insecticide et capables de se relayer en tant que vecteurs. Tout cela complique fortement la lutte antivectorielle.

Microbiote et parasites

La flore bactérienne, ou microbiote, est particulièrement abondante et diversifiée dans l'estomac des anophèles adultes. Une alpha-protéobactérie du genre *Asaia* est associée de façon stable avec les stades aquatiques et adultes d'*An. stephensi*

Tableau 10.1 – Les vecteurs principaux et secondaires de *Plasmodium* d'Homme (d'après CARNEVALE *et al.*, 2009).

Régions	Sous-régions	Vecteurs principaux	Vecteurs locaux et/ou secondaires
Paléarctique	Eurasie (paludisme en majeure partie éradiqué mais espèces présentes)	<i>An. atroparvus</i> <i>An. labranchiae</i> <i>An. sacharovi</i> <i>An. messeae</i> <i>An. maculipennis</i>	<i>An. plumbeus</i>
	méditerranéenne (Afrique du Nord, Levant, Turquie)	<i>An. labranchiae</i> <i>An. sacharovi</i> <i>An. superpictus</i> <i>An. sergentii</i>	<i>An. claviger</i>
	arabo-iranienne États d'Arabie, Irak, Iran, ex-rép. soviétiques d'Asie, Afghanistan, Xi Kiang	<i>An. sacharovi</i> <i>An. superpictus</i> <i>An. culicifacies s.l.</i> <i>An. stephensi</i> <i>An. fluviatilis s.l.</i>	<i>An. dthali</i> <i>An. sergentii</i> <i>An. pulcherrimus</i> <i>An. hyrcanus</i> <i>An. martinius</i>
	chinoise (au nord 25° parallèle Chine, Corée, Japon)	<i>An. sinensis</i> <i>An. lesteri</i> (syn. <i>An. anthropophagus</i>) <i>An. harrisoni</i> (ex- <i>An. minimus</i> C)	
Orientale	indo-pakistanaise Inde, Pakistan, Ouest-Bengladesh, Népal, Sri Lanka	<i>An. culicifacies s.l.</i> <i>An. fluviatilis s.l.</i> <i>An. stephensi</i> <i>An. nivipes</i> <i>An. philippinensis</i> <i>An. aconitus</i>	<i>An. annularis</i> <i>An. varuna</i> <i>An. tessellatus</i> <i>An. subpictus</i>
	Indochine Inde (est du Brahmapoutre Myanmar, Chine (sud du 25°), Laos, Vietnam, Cambodge, Thaïlande	<i>An. minimus s.l.</i> <i>An. dirus s.l.</i> <i>An. maculatus s.l.</i> <i>An. sundaicus s.l.</i>	<i>An. liangshanensis</i> (syn. <i>An. kunmingensis</i>) <i>An. sinensis s.l.</i> <i>An. philippinensis s.l.</i> <i>An. subpictus</i> <i>An. jeyporiensis</i>
	malayo-indonésienne, Bornéo, Philippines	<i>An. sundaicus s.l.</i> <i>An. balabacensis s.l.</i> <i>An. flavirostris</i> <i>An. barbinostris s.l.</i> <i>An. aconitus</i>	<i>An. maculatus s.l.</i> <i>An. subpictus</i> <i>An. letifer</i> <i>An. campestris</i>
Australasienne	Indonésie, Papouasie-Nouvelle-Guinée, Salomon, Vanuatu	<i>An. farauti n°1</i> <i>An. punctulatus</i> <i>An. koliensis</i>	

Tableau 10.1 – (suite)

Régions	Sous-régions	Vecteurs principaux	Vecteurs locaux et/ou secondaires
Afrotropicale	Afrique subsaharienne Madagascar et îles océan Indien sud-ouest péninsule Arabique	<i>An. gambiae</i> <i>An. coluzzii</i> <i>An. arabiensis</i> <i>An. melas</i> <i>An. merus</i> <i>An. funestus</i> <i>An. mouchei</i> <i>An. nili</i>	<i>An. mascarensis</i> (Madagascar) <i>An. pharoensis</i> <i>An. paludis</i> <i>An. hargreavesi</i> <i>An. brunnipes</i>
Américaine	Amérique du Nord		<i>An. quadrimaculatus</i> <i>An. freeborni</i> <i>An. hermsi</i>
	Amérique centrale	<i>An. albimanus</i> <i>An. darlingi</i> <i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. vestitipennis</i>
	Caraïbes	<i>An. albimanus</i>	<i>An. bellator</i> <i>An. aquasalis</i>
	Pays andins (Colombie, Venezuela, Bolivie, Pérou, Équateur)	<i>An. albimanus</i> <i>An. darlingi</i> <i>An. pseudopunctipennis</i> <i>An. aquasalis</i> <i>An. nuneztovari</i>	<i>An. neivai</i> <i>An. oswaldoi</i>
	Amazonie, Guyane Cône sud	<i>An. darlingi</i> <i>An. aquasalis</i> <i>An. nuneztovari</i> <i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. bellator</i> <i>An. cruzii</i> <i>An. oswaldoi</i>

(FAVIA *et al.*, 2007). Cette bactérie occupe la première place sur le plan quantitatif au sein du microbiote de l'anophèle, en particulier dans l'estomac et les glandes salivaires de la femelle et dans le tractus génital du mâle.

Les communautés bactériennes de l'estomac des populations sauvages d'*An. gambiae* du Cameroun sont composées d'au moins 26 phyla, parmi lesquels cinq dominent, représentant 99 % du microbiote total : Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes et Fusobacteria. Seulement cinq genres sont communs à 80 % des moustiques testés. Il est

probable que l'infection soit réalisée aux stades larvaires, dans l'eau du gîte. Selon les études, la présence d'Enterobacteriaceae semble soit facilitatrice d'une infection à *P. falciparum* (BOISSIÈRE *et al.*, 2012), soit au contraire limitatrice (TCHIOFFO *et al.*, 2013).

Les *Wolbachia* sont des bactéries intracellulaires à transmission maternelle. Elles sont connues de longue date chez de nombreux insectes incluant des Culicinae, mais leur présence chez les anophèles est restée une question ouverte jusqu'à récemment. L'équipe de Flaminia Catteruccia (BALDINI *et al.*, 2014) a démontré la présence de

telles endobactéries chez les espèces jumelles *An. gambiae* et *An. coluzzii* au Burkina Faso. Seule une minorité des populations étudiées d'anophèles est infectée.

Les microsporidies, longtemps considérées comme des protozoaires, relèvent en fait des champignons parasites intracellulaires obligatoires. Les principaux genres parasites de moustiques sont *Brachiola*, *Plistophora* (synonyme *Pleistophora*), *Stempellia* et *Thelohania*. Les espèces du genre *Brachiola* sont des parasites redoutés dans les insectariums où sont élevés des anophèles, car ils mettent tout l'élevage en danger. *Brachiola gambiae* a été observée dans un élevage d'*An. gambiae* au Liberia à la fin des années 1950 (WEISER et ZIZKA, 2004) ; selon ces auteurs, cette souche de microsporidies a été identifiée à tort comme *Nosema stegomyiae*. *Brachiola algerae* (synonyme *Nosema algerae*) a souvent été rapportée dans divers insectariums à partir des années 1970. L'infection est plus ou moins létale selon qu'elle est massive ou non, selon les espèces anophéliennes, selon le stade larvaire ou adulte, et probablement aussi selon l'isolat. Au stade adulte, l'infection réduit grandement la fécondité et la longévité. Elle perturbe le développement sporogonique des *Plasmodium* (SCHENKEN *et al.*, 1992). Quoique les taux d'infection dans la nature soient faibles, la possibilité d'utiliser cet agent en lutte biologique est évoquée depuis longtemps.

D'autres champignons entomopathogènes tels que *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* peuvent être hautement toxiques pour les stades larvaire ou adulte, et leur utilisation a été envisagée de longue date en lutte biologique.

IMPORTANCE MÉDICALE ET VÉTÉRINAIRE

Les anophèles ont une importance considérable en santé humaine. Outre les nuisances qu'ils occasionnent, près de 60 espèces assurent, avec plus ou moins d'efficacité, la transmission des *Plasmodium* de mammifères, agents du paludisme – incluant le paludisme humain, première parasitose pour l'Homme. Ils sont également vecteurs

de filaires, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* et *Brugia timori*, ainsi que d'arbovirus (O'Nyong-Nyong, Tataguine, Ross River, etc.). Les anophèles ont aussi une certaine importance en santé animale, en étant responsables de la transmission de *Plasmodium* de mammifères, notamment de rongeurs, de filaires animales et en étant impliqués comme vecteurs secondaires dans la transmission de virus tels que ceux de la myxomatose et de la fièvre de la Vallée du Rift.

Les anophèles ne sont pas impliqués dans la transmission de bactéries.

Compétence et capacité vectorielle

Chez les insectes, la possibilité de transmettre un agent pathogène n'est pas la règle. Par exemple, dans le cas du paludisme humain, seuls les anophèles sont capables de transmettre les espèces de *Plasmodium* affectant l'Homme, alors que dans les zones endémiques de nombreux Culicidae rentrent en contact avec le parasite. De plus, des 486 espèces d'anophèles formellement décrites seulement 60 sont considérées vectrices de *Plasmodium* et, parmi elles, il existe une gradation (vecteurs majeurs et secondaires) selon leur rôle dans la transmission. La capacité d'un moustique à être vecteur est étroitement liée à sa susceptibilité à répliquer et transmettre l'agent infectieux, mais aussi à sa capacité à propager l'agent parmi la population d'hôtes. Cette capacité est déterminée par des facteurs intrinsèques aux moustiques, mais aussi par des facteurs extrinsèques.

La publication du génome d'*An. gambiae* (HOLT *et al.*, 2002) a contribué d'une manière significative à comprendre les bases génétiques de la compétence vectorielle. De nombreuses expériences ont été réalisées au laboratoire sur le système *Anopheles-Plasmodium*, qui ont permis d'identifier les mécanismes et les gènes d'*An. gambiae* impliqués dans la réponse immunitaire à l'infection par *Plasmodium* (RIEHLE *et al.*, 2006 ; MITRI *et al.*, 2009). Cependant, des études plus récentes ont démontré que les facteurs environnementaux extrinsèques (moment de l'infection, température, etc.) ou intrinsèques (résistance aux

insecticides, faune bactérienne, etc.) modulent la réponse immunitaire du moustique (PAAIJMANS *et al.*, 2010 ; RUND *et al.*, 2012 ; ALOUT *et al.*, 2014). En conséquence, la compétence des anophèles pour transmettre le pathogène va être déterminée par des facteurs génétiques (du parasite et du moustique) et des facteurs environnementaux non génétiques (bactéries endosymbiontes, température, hygrométrie, effet paternel, etc.) ainsi que par leurs interactions (LEFÈVRE *et al.*, 2013).

Afin de mesurer et comparer le risque de transmission et/ou le succès des campagnes de contrôle des maladies vectorielles, il existe des formules qui permettent de connaître la capacité vectorielle : $C = (m a^2 p^n / -\ln p)$, où m est le ratio vecteur-hôte (la densité d'*Anopheles* en relation avec les Hommes), a le nombre de piqûres par jour et par Homme, p la survie journalière du moustique (au dénominateur, sous forme d'un logarithme népérien), n les jours que dure l'infection (*i.e.* durée de la phase sporogonique) chez le vecteur pour qu'il soit infectant. Une autre formule dérivée de la première, très utilisée en épidémiologie, est le Taux de Reproduction de Base R_0 (*basic reproductive number* en anglais). R_0 est le nombre total d'individus qu'une personne infectieuse peut infecter. Si $R_0 < 1$, cela signifie que la maladie ne subsistera pas. À l'opposé, si $R_0 > 1$, la maladie pourra persister et se propager. R_0 est le produit de la capacité vectorielle, de l'infectivité du vecteur vers l'Homme (b) et de l'Homme vers le vecteur (c) et de la période infectieuse de l'Homme ($1/r$) : $R_0 = (m a^2 p^n / -\ln p) \times bc \times 1/r$.

Plasmodium / paludisme

Le terme « paludisme », issu du latin *palus*, *paludis* (marais), est d'usage en français et parfaitement synonyme de « malaria », issu de l'italien médiéval *mala aria* (« mauvais air »), très utilisé dans le monde en particulier par les italophones et les anglophones. Le paludisme est une maladie infectieuse de l'Homme due à un protozoaire du genre *Plasmodium* (encadré 10.1). Mais ce terme désigne aussi toutes les infections dues aux *Plasmodium*, soit

quelque 200 espèces plasmodiales actuellement répertoriées (et probablement beaucoup plus en réalité) infectant les mammifères, oiseaux et reptiles squamates.

Distribution du paludisme dans le monde - Santé publique

Selon l'OMS, en 2015 on a enregistré 212 millions de cas de paludisme (avec une marge d'incertitude comprise entre 148 millions et 304 millions) qui ont été à l'origine de 429 000 décès (avec une marge d'incertitude comprise entre 235 000 et 639 000), ces décès survenant pour la plupart parmi les enfants africains. Ces chiffres font état d'une incontestable amélioration de la situation par rapport à l'an 2000, avec une diminution de la mortalité palustre de 50 % au niveau mondial et dans la Région africaine de l'OMS. Ces dernières années, 40 pays ont réduit au moins de moitié la morbidité et la mortalité palustres. L'élimination a été certifiée dans 6 pays : Émirats arabes unis (2007), Maroc (2010), Turkménistan (2010), Arménie (2011), Kirgizistan et Sri Lanka (2016). D'autres pays ont fait des progrès impressionnants, comme l'Afrique du Sud et le Swaziland où les cas ont diminué de 90 %.

Trois raisons principales sous-tendent ces améliorations : 1) l'accroissement sans précédent de la mise à disposition de fonds alloués à la lutte antipaludique ; 2) la généralisation de l'abandon de la chloroquine en première intention au profit de thérapies associant deux molécules dont une à base d'artémisinine dans le traitement de l'accès palustre ; 3) la mise en place d'une stratégie de prévention reposant largement sur les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée et, dans des zones plus limitées, sur l'aspersion domiciliaire d'insecticide. Deux autres approches se sont également révélées particulièrement efficaces : le traitement présomptif intermittent, probablement équivalent à une chimioprophylaxie ciblée sur les populations à risque que constituent les femmes enceintes et les jeunes enfants, et la mise au point de kits de diagnostic rapide, facilement utilisables au lit du malade. Chacun s'accorde à reconnaître que c'est la synergie

Encadré 10.1 – Position systématique du genre *Plasmodium*

Le genre *Plasmodium* appartient au phylum des Apicomplexa, à l'ordre des Haemosporidia et à la famille des Plasmodiidae (LEVINE, 1988).

- Les Apicomplexa, tous parasites de Métazoaires, se caractérisent notamment par 1) la présence d'un plaste (un apicoplaste d'origine chloroplastique, aujourd'hui incapable de synthèse chlorophyllienne mais qui contient de l'ADN), 2) la présence d'un « complexe apical » chez les stades extracellulaires invasifs (par exemple, pour les *Plasmodium* : mérozoïte, sporozoïte, oocinète) dont le devenir est de traverser la membrane cytoplasmique d'une cellule de l'hôte et de pénétrer à l'intérieur de cette cellule, et 3) l'absence d'organites de locomotion (flagelle ou cils).
- L'ordre des Haemosporidia se caractérise notamment par des gamètes présentant un dimorphisme sexuel, un oocinète mobile (en anglais *ookinete*) issu d'une différenciation du zygote, un cycle biologique hétéroxène (*i.e.* à plusieurs hôtes obligatoires), une mérogonie (quasi-synonyme de schizogonie, et désignant une multiplication cellulaire asexuelle par fission multiple) intracellulaire dans un vertébré et une sporogonie dans un vecteur invertébré (souvent un diptère hématophage).
- La famille des Plasmodiidae est caractérisée par des parasites qui se multiplient dans les cellules sanguines (ordinairement les globules rouges, rarement les globules blancs) et par la présence de pigment hémozoïne, ou pigment malarique, issu de la dégradation de l'hémoglobine ; le parasite évacue l'hémozoïne qui s'accumule dans le cytoplasme de la cellule hôte.
- Le genre *Plasmodium* est composé d'espèces parasites obligatoires dont le cycle de vie implique deux hôtes, un moustique qui est vecteur et hôte définitif (par définition puisque la fécondation s'effectue dans l'estomac du moustique) et un vertébré qui est hôte intermédiaire. Les *Plasmodium* parasitent trois groupes zoologiques : 1) les mammifères, en particulier les primates, les rongeurs en Afrique tropicale, les chauves-souris, porcs-épics, écureuils, et quelques artiodactyles ; mais nombre de mammifères en sont indemnes, en particulier les carnivores, insectivores et marsupiaux ; 2) la quasi-totalité des oiseaux ; 3) la plupart des reptiles squamates (lézards, agames, serpents) et crocodiles. Aucun *Plasmodium* n'est connu chez les mammifères marins (cétacés, phoques et otaries), chez les tortues, les amphibiens et, comme attendu pour un parasite à transmission obligatoire par un insecte hématophage, chez les poissons. Alors que trois groupes zoologiques sont impliqués (mammifères, oiseaux et reptiles), il existe seulement deux sous-ensembles dans l'ensemble des *Plasmodium* : d'une part les *Plasmodium* de mammifères et d'autre part les *Plasmodium* d'oiseaux et de reptiles, en conformité avec la proximité phylogénétique des oiseaux et des reptiles.

de ces interventions qui a réduit le poids du paludisme dans le monde, chaque intervention prise une à une étant incapable de tels succès (ROBERT *et al.*, 2011 b).

Aussi se met-on à réenvisager, dans la continuité des années 1950, l'éradication du paludisme (SMITH *et al.*, 2013 ; LIU *et al.*, 2013). L'OMS distingue justement élimination et éradication. L'élimination du paludisme est définie comme l'interruption de la transmission locale de la maladie dans une zone géographique déterminée, c'est-à-dire une incidence de zéro cas contracté localement. L'éradication est définie

comme une incidence mondiale de zéro cas de paludisme causé par un agent déterminé et s'applique donc à une espèce particulière, en l'occurrence une espèce du genre *Plasmodium*. L'élimination est sujette à une réintroduction du parasite et doit donc être envisagée comme une lutte sans terme prédéfini, alors que l'éradication, une fois atteinte, représente une situation idéale et permanente. Posée en ces termes, il va sans dire que l'éradication paraît plus séduisante. Mais la concrétisation du rêve de l'éradication de *P. falciparum* fait débat, en particulier pour des raisons de faisabilité. Les principales menaces étant la

disponibilité des financements, les problèmes de résistances (des parasites aux dérivés de l'artémisinine [ARIEY *et al.*, 2014], et des anophèles aux pyrèthrinoïdes [ANTONIO-NKONDJIO *et al.*, 2011 ; HEMMINGWAY *et al.*, 2016]) et l'accessibilité des zones en conflit ou en guerre. Pour le moment, la lutte antipaludique continue.

En zone d'endémie, où les réinfections par piqûres d'anophèles sont multiples, le portage de parasite est un événement banal. Une majorité d'enfants, présents à l'école et manifestement en bonne santé, peut présenter des parasites sanguins. Cet état d'équilibre entre l'Homme et le parasite traduit un statut immunitaire particulier, plus ou moins stable, admirablement décrit par Edmond Sergent dans les années 1940 sous le terme de « prémunition ». Cette acquisition naturelle d'une résistance est un bienfait pour les populations des zones d'endémie (TRAPE *et al.*, 2014). Mais la prémunition est d'acquisition lente, se construisant sur plusieurs années d'étroit contact entre Homme et parasite. Elle nécessite d'être entretenue par des infections répétées. De plus, elle n'est pas totalement efficace car elle est non stérilisante pour le parasite. Il en résulte que, dans un contexte d'endémie, l'infection n'est pas synonyme de maladie. La distinction entre paludisme-infection asymptomatique et paludisme-maladie a été faite en prenant en compte la fièvre et la densité parasitaire : Jean-François Trape a montré que la mesure de la densité parasitaire permettait de porter ou de réfuter le diagnostic d'accès palustre chez un malade fébrile dans l'ensemble des contextes épidémiologiques où les infections asymptomatiques ont une prévalence élevée.

Espèces plasmodiales de l'Homme

Quatre espèces sont connues pour infecter l'Homme. Elles sont à l'origine d'accès palustres dont la clinique est variable mais les signes les plus fréquents en sont la fièvre, la céphalée et les frissons.

Plasmodium falciparum est la seule espèce pouvant induire des accès aigus mortels. Elle est responsable de la majorité des décès, suite à des accès graves ou compliqués avec paludisme

cérébral (*i.e.* neuropaludisme associé à un coma), détresse respiratoire aiguë, anémie sévère, acidose en particulier à l'acide lactique, hypoglycémie et/ou surinfections bactériennes. *Plasmodium falciparum* est l'agent de la fièvre tierce maligne ; on parle de fièvre « tierce » car cette périodicité des recrudescences fébriles est liée à la vitesse du cycle de multiplication dans le sang, tous les deux jours, aux jours 1, 3, etc. ; en fait, cette périodicité est surtout observée en accès de primo-infection et chez les patients non prémunis. Avec cette espèce, l'infection dans le foie est brève et transitoire et il n'y a pas de rechute lorsque la cure des parasites sanguins a été radicale. Mais en l'absence de traitement efficace, l'infection dans le sang peut s'entretenir pendant au moins une année.

Les trois autres espèces plasmodiales provoquent des formes de paludisme qui ne sont généralement pas mortelles mais qui entraînent une lourde morbidité : *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Les deux premières sont les agents de la fièvre tierce bénigne, alors que *P. malariae* est l'agent de la fièvre quarte bénigne. Toutefois, au cours des 5 dernières années, on rapporte de nombreux accès graves à *P. vivax*, parfois fatals, en Indonésie et Papouasie-Nouvelle-Guinée (où de hauts niveaux de chloroquino-résistance sont fréquents), ainsi qu'en Inde et en Amazonie (WHITE, 2014). Des hypnozoïtes (stade dormant, sans répllication) hépatiques existent uniquement chez *P. vivax* et *P. ovale*, et sont à l'origine d'accès de rechutes. En revanche, chez *P. malariae*, certains mérozoïtes hépatiques ne gagnent pas le sang mais infectent de nouveaux hépatocytes en des cycles hépatiques secondaires et sont à l'origine d'accès de reviviscence. Ainsi, la parasitose est entretenue dans le foie pendant 2 à 3 ans pour *P. ovale*, 3 à 5 ans ou plus pour *P. vivax* et encore davantage pour *P. malariae*.

La distribution des quatre espèces est essentiellement tropicale, mais *P. vivax* tolère des températures plus froides et il est également présent en zone tempérée. *Plasmodium vivax* est très prévalent en Asie du Sud et du Sud-Est et en Amérique latine, mais presque absent d'Afrique tropicale, où il est remplacé par *P. ovale*.

On a découvert récemment que *P. knowlesi*, dont l'hôte vertébré habituel est le singe Macaque, est responsable d'une forte prévalence d'infections chez les Hommes en Malaisie. La dépendance de ces infections humaines avec la proximité des singes incite à ne pas considérer *P. knowlesi* sur le même plan que les 4 espèces plasmodiales précédentes, dont l'hôte vertébré habituel est l'Homme.

Plasmodium de grands singes, d'autres primates, de rongeurs, d'oiseaux et de squamates

On a longtemps estimé qu'il n'existait pas de réservoir animal pour les quatre espèces plasmodiales parasitant l'Homme. Mais il est maintenant admis que les grands singes africains, en particulier le gorille et dans une moindre mesure le chimpanzé, sont des hôtes naturels de ces quatre *Plasmodium*, y compris *P. falciparum* et *P. vivax*. Ces grands singes hébergent une grande diversité de souches plasmodiales incluant les souches de parasites qui circulent chez l'Homme. Ils hébergent même d'autres espèces plasmodiales proches sur le plan phylogénétique, qui ne sont pas retrouvées chez l'Homme (DUVAL *et al.*, 2010 ; LIU *et al.*, 2010).

La plupart des simiens en zone tropicale, sur tous les continents, et des lémurins à Madagascar sont naturellement infectés par des *Plasmodium*.

À l'inverse, les rongeurs sont ordinairement indemnes d'infections hors de l'Afrique tropicale. Les espèces *P. berghei* et *P. yoelii* sont des exemples pris parmi les 4 espèces connues chez les rongeurs d'Afrique centrale. Elles ont été trouvées pour la première fois au stade sporozoïte (*P. berghei*) dans les glandes salivaires de l'anophèle forestier *An. duren*, constituant ainsi une exception, alors que les espèces nouvelles de *Plasmodium* sont ordinairement décrites de leur hôte vertébré comme *P. yoelii* dans le sang du rongeur *Thamnomys rutilans* naturellement infectés. Ces parasites ont été secondairement adaptés à la souris de laboratoire pour servir de modèles expérimentaux, quoique l'infection par *P. berghei* soit habituellement fatale à la souris. D'innombrables recherches ont ainsi été menées :

cycle biologique, recherches pharmacologiques (identification de nouveaux antimalariques), immunologiques (recherche vaccinale) et évolutionnistes (virulence, coût de l'infection), etc. Récemment, une nouvelle espèce décrite au Gabon, *An. gabonensis*, a été trouvée infectée par *P. vinckei*, un *Plasmodium* de rongeur (RAHOLA *et al.*, 2014).

D'autres parasites modèles, issus des oiseaux, ont aussi largement été utilisés. C'est le cas pour les couples *P. gallinaceum* et la poule, et *P. relictum* et le canari.

Les *Plasmodium* de squamates, nettement moins bien connus, ont jusqu'ici été étudiés dans un contexte d'inventaire d'espèces ou de prise en compte de la biodiversité.

Développement du Plasmodium dans le vecteur (incubation extrinsèque) et dans l'Homme

Incubation extrinsèque

L'incubation extrinsèque recouvre plusieurs étapes distinctes : gamétogénèse, fécondation, stade oocinète, stade oocyste dans lequel s'effectue la sporogénèse et libération des sporozoïtes qui colonisent les glandes salivaires. Par abus de langage, on assimile le développement extrinsèque à la « sporogonie », peut-être parce que la sporogénèse est l'étape la plus longue dans cette séquence et que le sporozoïte en est l'aboutissement.

De façon schématique, 4 éléments caractérisent le développement du *Plasmodium* chez le moustique :

- la gamétogénèse et la fécondation du *Plasmodium* se réalisent dans l'estomac du moustique ;
- la fécondation achevée, le zygote de *Plasmodium* se différencie en un oocinète mobile qui va traverser la paroi stomacale pour se transformer en un oocyste où se développent de nombreux sporozoïtes qui, à maturité, vont envahir les cellules des glandes salivaires puis la salive de l'anophèle ;
- le *Plasmodium* passe par plusieurs phases de réduction de densité (en anglais *bottleneck*) et

de multiplication durant sa phase de développement extrinsèque. La réduction du nombre de parasites présents est importante jusqu'au stade oocyste mûr. Chaque oocyste produit un grand nombre de sporozoïtes qui vont gagner les glandes salivaires ;

- la durée de l'ensemble du développement sporogonique est fonction, notamment, de l'espèce plasmodiale et des conditions de température (DETINOVA, 1962).

La gamétocytogenèse se déroule entièrement dans l'hôte humain (TALMAN *et al.*, 2004). Le gamétocyte mature (un pré-gamète) est véhiculé dans le sang circulant et constitue le seul stade capable de poursuivre son développement dans l'hôte vecteur. Les autres stades parasitaires asexués éventuellement ingérés par le moustique dans le repas de sang seront digérés.

Au cours de la demi-heure suivant leur ingestion dans l'estomac de l'anophèle, les microgamétocytes ♂ et macrogamétocytes ♀ subissent une activation avec un passage à une forme sphérique, comparable chez les deux sexes. Ils sortent à ce moment de la membrane plasmique de l'érythrocyte qu'ils parasitaient. Le microgamétocyte évolue par fissions multiples (*i.e.* par schizogonie) en microgamètes ; ce phénomène a été décrit sous le terme d'« exflagellation », avec production de jusqu'à 8 gamètes mâles par microgamétocyte. En revanche, le macrogamétocyte évolue en un unique macrogamète ♀.

Dans l'heure qui suit l'ingestion du sang, la fécondation se réalise avec l'entrée du noyau du microgamète dans le macrogamète, suivie de la fusion des deux noyaux. Cette fusion est le siège de l'appariement des chromosomes qui permet la recombinaison entre les génomes paternel et maternel. À ce stade, l'immunité du sujet humain interviendrait par l'intermédiaire d'anticorps tels que anti Pfs 25 et Pfs 48/45, qui peuvent limiter, voire empêcher, cette fécondation, laissant suspecter l'implication des protéines correspondantes dans la reconnaissance entre les gamètes mâles et femelles avec pour conséquence un « blocage » de la transmission.

Entre 5 et 7 heures après le repas, le zygote

diploïde réalise une endoméiose qui débute comme une méiose classique mais qui ne se termine pas par une division cellulaire, le produit final étant une seule cellule. Seul le zygote est donc diploïde, et tous les stades ultérieurs (y compris chez l'Homme) sont haploïdes. Entre 9 et 24 heures après le repas, le zygote entreprend une différenciation en un oocinète en passant par une forme dite « retort » vu son aspect qui évoque vaguement une cornue de chimiste.

Les gamètes, zygotes et oocinètes, évoluent dans le sang humain ingéré par le moustique et donc sont confrontés aux anticorps et macrophages encore actifs. On estime que certaines activités dans le sang, dont celle du complément, persisteraient quelque 8 heures dans l'estomac du moustique et agiraient négativement sur le développement du *Plasmodium*. Par ailleurs, les phagocytes pourraient tuer les éléments sexués du parasite dans l'estomac du vecteur.

Dans les 24 heures suivant l'ingestion du repas de sang infectant, l'ocinète traverse l'enveloppe péritrophique qui entoure le sang dans l'estomac, puis passe dans le faible espace entre cette enveloppe et les cellules de l'épithélium stomacal, adhère à ces cellules, principalement dans la zone distale de l'estomac, et passe entre elles ou à travers elles. À la suite de l'invasion des oocinètes, les cellules épithéliales présentent des modifications pathologiques rapides, culminant en une mort cellulaire programmée (apoptose), en une lyse rapide et une extrusion hors de l'épithélium dans la lumière de l'estomac. L'ensemble de ces réactions des cellules épithéliales de l'anophèle réduit fortement l'infection des anophèles. Il arrive que, même dans des souches anophéliennes susceptibles, il y ait une lyse ou une encapsulation de jeunes oocystes. La mélanisation/encapsulation est un mécanisme naturel de défense du moustique ; mais ce phénomène est rare dans la nature chez les vecteurs majeurs et son rôle épidémiologique est forcément faible ou négligeable.

Entre 24 et 36 heures après le repas de sang, l'ocinète se positionne entre la couche cellulaire et la membrane basale de l'épithélium stomacal et

se transforme en un oocyste, via un stade « took » (*transforming ookinete*) qui est transitoire et intermédiaire entre l'oocinète et l'oocyste.

Entre 9 et 15 jours après le repas infectant, l'oocyste grossit pour atteindre un diamètre de l'ordre de 20 à 60 µm. C'est ce stade oocyste qui a particulièrement attiré l'attention de Ronald Ross en 1897 et lui a permis d'incriminer l'anophèle (*dapple wing mosquito*) dans le déroulement du cycle évolutif du *Plasmodium*. Le noyau du jeune oocyste entreprend une série d'endomitoses synchrones (*i.e.* une schizogonie) qui vont produire les sporoblastes. Une fois ces divisions achevées, les sporozoïtes s'individualisent. On estime que 13 divisions mitotiques sont nécessaires pour produire jusqu'à 8 000 sporozoïtes par oocyste. La protéine circumsporozoïtaire (CSP) est exprimée dans l'oocyste dès le 5^e jour après le repas infectant. Dans la nature, le nombre d'oocystes par estomac d'anophèles est généralement inférieur à 10. En zone hyper-endémique de Tanzanie, PRINGLE (1966) trouve 26 % d'*An. gambiae* porteurs d'oocystes avec ≥ 9 oocystes, et 11 % d'*An. funestus*. Ces observations ont été largement confirmées (BOUSEMA *et al.*, 2012).

Les sporozoïtes quittent l'oocyste, soit individuellement à travers des micro-perforations de la paroi de l'oocyste, soit massivement à la faveur d'une rupture de cette paroi, et se retrouvent dans l'hémolymph. On estime que 10-20 % d'entre eux seulement vont rejoindre les glandes salivaires. Les sporozoïtes libérés par l'oocyste sont morphologiquement matures, mais ils sont peu infectants, une maturation s'effectuant dans les glandes salivaires. Les sporozoïtes s'accumulent préférentiellement dans les cellules des lobes médians des glandes salivaires et dans la partie distale des lobes latéraux. Ceux qui pénètrent dans les parties proximales des lobes latéraux se trouvent piégés car le canal salivaire est revêtu, à cet endroit, d'une cuticule infranchissable par les sporozoïtes. On considère que les anophèles qui ont des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires restent potentiellement infectants durant tout le reste de leur vie.

La température optimale du développement sporogonique est de 19-21 °C pour *P. berghei* et de 26 °C pour *P. falciparum* – alors que c'est une température létale pour *P. berghei*. La température minimale (température constante) de développement est de 17 °C pour *P. vivax* et de 20 °C pour *P. falciparum*. La température de 33 °C stoppe le développement sporogonique de ces deux espèces plasmodiales. Cependant, les fluctuations de la température pendant la période d'incubation extrinsèque peuvent avoir un effet sur le développement du parasite et l'infection ; en d'autres termes, l'éventail de réponses immunitaires humorales et cellulaires varie selon la température. Par exemple, la mélanisation est maximale à 18 °C mais elle diminue considérablement à 26-28 °C, températures où les infections expérimentales sont habituellement réalisées (MURDOCK *et al.*, 2012). Au total, la durée de l'incubation extrinsèque, selon la température, varie entre 7 et 17 jours pour *P. vivax* et entre 8 et 24 jours pour *P. falciparum*.

De nombreux travaux ont été consacrés à l'estimation du nombre de sporozoïtes dans les glandes salivaires. Au Kenya, la charge sporozoïtique des glandes salivaires d'*An. gambiae* variait de 125 à 79 875 sporozoïtes (moyenne géométrique de 1 743 sporozoïtes/anophèle) et la moitié des spécimens infectés avaient moins de 1 000 sporozoïtes (KABIRU *et al.*, 1997). Mais le nombre de sporozoïtes effectivement inoculés est bien plus faible que le nombre de sporozoïtes présents dans les glandes salivaires. Selon les auteurs, c'est 10 à 1 000 sporozoïtes qui seraient inoculés par piqûre infectante.

Développement du Plasmodium chez l'Homme

Les sporozoïtes sont injectés dans le derme (CHOUMET *et al.*, 2012). La plupart rejoignent rapidement la circulation sanguine et pénètrent dans un hépatocyte, type cellulaire très majoritaire dans le foie où se déroule la phase hépatique (autrefois appelée phase exo-érythrocytaire). Chaque sporozoïte se transforme en un schizonte, siège d'une intense multiplication cellulaire, qui produit 10 000 à 30 000 mérozoïtes

en 5,5-8 jours. Mais, comme il a été dit précédemment, des hypnozoïtes intra-hépatiques existent chez *P. vivax* et *P. ovale*. Les mérozoïtes hépatiques passent dans la circulation sanguine pour infecter les érythrocytes. La phase sanguine du parasite se déroule selon un cycle asexuel qui prend à peu près 48 heures pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*, 72 heures pour *P. malariae*, et seulement 24 heures pour *P. knowlesi*. La croissance du trophozoïte entraîne la digestion du contenu de l'érythrocyte, essentiellement de l'hémoglobine, et la production du pigment malarique cristallisé, l'hémozoïne. Le trophozoïte se transforme en schizonte dont l'éclatement libère 6-30 mérozoïtes. Ces derniers, sitôt dans le plasma sanguin, pénètrent dans de nouveaux érythrocytes, entretenant ainsi le cycle sanguin. La phase sanguine présente trois particularités selon l'espèce plasmodiale : elle se déroule dans les capillaires profonds où les schizontes cytoadhèrent, pour *P. falciparum* ; elle concerne les seuls réticulocytes, c'est-à-dire les stades immatures des érythrocytes, pour *P. vivax* ; et elle concerne les seuls érythrocytes matures, voire les plus âgés, pour *P. malariae*. Chez un Homme non immun, la multiplication parasitaire varie entre 6 et 20 fois par cycle. La phase clinique de l'infection commence après 6 à 8 jours de phase sanguine, soit 12-14 jours après la piqûre infectante. Elle est directement causée par la phase sanguine du parasite, avec destruction des hématies et réaction de l'hôte ; en revanche, la phase hépatique est totalement asymptomatique.

Plasmodium falciparum produit des composés volatils qui sont attractants pour *An. gambiae* et qui pourraient de ce fait favoriser la transmission Homme-moustique (KELLY *et al.*, 2015).

Un certain nombre de parasites sanguins ne suivent pas le cycle asexué mais s'engagent dans la voie de la gamétocytogenèse, qui est une différenciation cellulaire sans multiplication (KAFSACK *et al.*, 2014), pour former des gamétocytes mâles ou femelles dans la proportion de 1 mâle pour 4 femelles. L'ingestion lors d'un repas de sang d'un anophèle est la seule possibilité pour un gamétocyte de poursuivre son dévelop-

pement. La gamétocytogenèse de *P. falciparum* est particulière sous au moins deux aspects : elle ne se déroule pas dans la circulation périphérique, mais dans les capillaires profonds, en particulier de la moelle osseuse ; et elle est relativement lente à se mettre en place, si bien que le pic de gamétocytes est observé 7-10 jours après le pic de parasites asexués.

Transmission et taux d'inoculation entomologique

La transmission des *Plasmodium* est essentiellement vectorielle. Mais il ne faut pas oublier, en ce qui concerne l'Homme, que l'infection est également transmise par transfusion sanguine et par greffe d'organes. Un cas particulier concerne aussi la transmission transplacentaire materno-fœtale et donc *in utero*.

La transmission vectorielle des *Plasmodium* est le fait :

- des *Anopheles*, pour tous les *Plasmodium*, y compris les *Plasmodium* d'oiseaux ;
- des Culicinae (par exemple les genres *Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Coquillettidia*, *Aedeomyia* et *Mansonia*), pour tous les *Plasmodium* d'oiseaux ; mais les Culicinae ne sont pas vecteurs des *Plasmodium* de mammifères (MOLINA-CRUZ *et al.*, 2013) ;
- des Phlebotominae, pour une unique espèce de *Plasmodium* de lézard, *P. mexicanum*, qui fait exception car transmise par des espèces du genre *Lutzomyia*. Les vecteurs de la quasi-totalité des *Plasmodium* de squamates restent inconnus.

La transmission désigne bien entendu le passage du parasite depuis le moustique vers l'Homme mais, tout autant, le passage du parasite depuis l'Homme vers le moustique. Si bien qu'il est parfois souhaitable de préciser à quelle phase de transmission, moustique-Homme ou Homme-moustique, on fait référence. Cette alternance d'hôtes (vertébré et insecte) est une caractéristique fondamentale du parasitisme des *Plasmodium*, et peut-être aussi une explication de la pathogénicité relativement faible des souches parasitaires (READ et MIDEO, 2013).

Les principales conditions du succès du développement extrinsèque sont les suivantes (COHUET *et al.*, 2010) :

- présence dans la population humaine de porteurs de gamétocytes infectants pour l'anophèle (CHURCHER *et al.*, 2013) ;
- présence d'anophèles génétiquement susceptibles au développement complet du *Plasmodium* considéré ;
- la longévité des femelles d'anophèles qui doit être supérieure à la durée de la sporogonie ;
- la fréquence élevée des contacts hôte-vecteur qui est liée à une forte anthropophilie des anophèles et à un cycle gonotrophique court ;
- les conditions environnementales, notamment la température, qui doivent être compatibles avec le déroulement de la sporogonie.

La mesure de la transmission moustique-Homme peut être obtenue selon Ronald Ross et sa *theory of happenings* (d'où le h) avec pour indicateur de base le taux d'inoculation entomologique, h (en anglais, *Entomological inoculation rate* ou EIR), qui correspond au nombre moyen de piqûres d'anophèles infectés reçues par un sujet humain en une nuit avec la formule désormais classique : $h = ma \times s$. Dans cette formule, *ma* correspond au nombre de piqûres reçues/Homme/nuit et *s* correspond à l'indice sporozoïtique établi par dissection et examen microscopique des glandes salivaires ou, plus fréquemment, par recherches ELISA de la protéine circumsporozoïtaire (CSP) (ROBERT *et al.*, 2006) ou par recherche de l'ADN du *Plasmodium* par PCR (RIDER *et al.*, 2012). En d'autres termes, la transmission est le produit de la densité anophélienne et de l'infectivité. Ce taux d'inoculation est estimé en nombre de piqûres d'anophèles infectés par nuit, mais il peut aussi être évalué par mois, par saison pluvieuse/sèche ou par an. C'est un indicateur facile à calculer, qui renseigne sur l'intensité de la transmission et fournit une indication de premier plan pour évaluer un niveau d'endémie. Il est entaché des biais habituels aux techniques d'échantillonnages des anophèles et de recherches de l'infectivité (KILAMA *et al.*, 2014).

Il est intéressant pour les études épidémiologiques et pour les actions de lutte antivectorielle par l'estimation de son évolution « avant/après », sous réserve de conserver les mêmes méthodologies.

La dynamique de ces inoculations est caractérisée par leur intensité et par leur distribution temporelle. L'intensité est extrêmement variable d'un lieu à l'autre, et d'une année à l'autre dans le même lieu. Il a été rapporté des transmissions de moins de 1 piqûre d'anophèle infecté par Homme et par an dans les quartiers centraux de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) et de plus de 1 000 piqûres d'anophèles infectés par Homme par an près des bassins de pisciculture de Djoumouna (Congo). Dans les villages de savane, des variations du simple au double sont courantes d'une année à l'autre, selon le rythme et l'intensité des pluies, par exemple, qui peuvent favoriser le développement d'une ou plusieurs espèces anophéliennes. La distribution temporelle (rythme, régularité) conditionne l'acquisition – et le maintien – de la prémunition, qui intervient dans l'expression clinique de la maladie palustre. Dans les zones où la transmission est intense, elle est généralement répartie sur la totalité de l'année (pérenne) ou sur une grande partie de l'année. En revanche, dans les zones où la transmission est faible, la période de transmission est brève (par exemple au Sahel) ou elle peut au contraire couvrir la quasi-totalité de l'année (par exemple en forêt non dégradée d'Afrique équatoriale). Entre ces extrêmes, la transmission est saisonnière.

Impact de l'environnement / notion de faciès du paludisme

L'environnement est un facteur clé de l'épidémiologie du paludisme. Il est pris en compte de façon globale dans le concept de faciès, défini comme un ensemble de lieux dans lesquels le paludisme présente les mêmes caractéristiques de transmission, de développement de l'immunité et de manifestations pathologiques.

Il existe un grand nombre de faciès du paludisme : de forêt, de savane, du Sahel, urbain, rizicole,

lagunaire, d'oasis, etc. (voir CARNEVALE *et al.*, 2009). L'exemple du faciès urbain est détaillé ci-dessous.

On a vu que les larves d'anophèles se développent plutôt dans de l'eau propre, chimiquement peu polluée et avec une faible teneur en matière organique ; aussi ces moustiques sont-ils principalement inféodés aux zones rurales. Mais il existe des exceptions en Inde et au Moyen-Orient, où les vecteurs majeurs de *Plasmodium* (respectivement *An. stephensi* et *An. sacharovi*) se développent dans les zones urbaines. En Afrique, l'urbanisation est un phénomène relativement récent ; jusqu'en 1960, il n'y avait aucune ville de plus d'un million d'habitants et en 2003 environ 40 % des 850 millions d'Africains vivaient en zone urbaine. Actuellement, il y a une quarantaine de villes africaines de plus d'un million d'habitants, et la tendance va s'accroître puisque l'on estime que 54 % de la population vivra en zone urbaine en 2030. En Afrique de l'Ouest, le taux annuel d'accroissement de la population urbaine est de 6,3 %, soit plus du double du taux général d'augmentation de la population. En zones humides, il y aurait déjà davantage d'habitants en zone urbaine qu'en zone rurale et dans les deux prochaines décennies les 2/3 de la population ouest-africaine devraient habiter en ville.

En termes paludologiques, le faciès urbain en Afrique subsaharienne est nettement individualisé par les caractéristiques détaillées ci-dessous (CARNEVALE *et al.*, 2009).

- Les gîtes larvaires urbains sont peu propices au développement des anophèles, parce que les eaux stagnantes sont généralement polluées et sont alors favorables à *Culex quinquefasciatus*, qui est « le » moustique urbain et qui est incapable de transmettre les *Plasmodium* de l'Homme. À Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), par exemple, le taux annuel de piqûres de *Cx. quinquefasciatus* a été estimé à 20 000/personne dans les quartiers centraux et à 4 000 dans les quartiers périphériques.
- Une très grande hétérogénéité spatiale de l'anophélisme est observée entre les quartiers

d'une seule ville et même au sein d'un seul quartier. La transmission est très variable selon le contexte écologique local : bas-fonds, proximité de jardins potagers ou d'autres aménagements hydro-agricoles comme les casiers à riz, de citernes ou bassins aménagés par les populations pour garder les eaux de pluie, etc. Au Sénégal à Pikine, dans la banlieue dakaroise, une étude a été menée en zone urbaine densément peuplée à proximité des niayes, zones de dunes marécageuses productives en anophèles vecteurs (TRAPE *et al.*, 1992). Les habitants étaient soumis à des taux annuels de piqûres d'*An. arabiensis* estimés à 414 dans les maisons en bord de niayes contre 21 dans les maisons à 800 mètres, la réduction de la densité de vecteur étant continue en fonction de l'éloignement des gîtes.

- La transmission est généralement moins intense dans le centre-ville que dans la zone périurbaine et rurale environnante. À Bobo-Dioulasso par exemple, il a été estimé une transmission de l'ordre de 0,14 à 0,6 piqûre d'anophèles infectés/homme/an au centre-ville, 6 en zone périurbaine et > 200 dans les villages des alentours. Un phénomène identique a été observé à Brazzaville. La prévalence plasmodiale suit le même gradient. Une méta-analyse dans les zones d'endémie d'Afrique montre que les taux annuels moyens d'inoculation sont de 7,1 piqûres d'anophèles infectés/homme/an en zones urbaines, 45,8 en zones périurbaines et 167,7 en zones rurales (ROBERT *et al.*, 2003). Cette transmission est certes faible, mais elle n'en est pas moins réelle et des accès palustres graves sont notés dans toutes les classes d'âge, même chez les adultes. Seules certaines zones du centre des grosses villes peuvent être indemnes de paludisme, mais leurs habitants restent à risque de contracter l'infection lorsqu'ils se déplacent hors de ces quartiers.
- Un fait nouveau concerne l'adaptation récente des anophèles vecteurs à l'environnement urbain pollué. On a vu que, jusqu'à récemment, l'anophèle était considéré en Afrique comme un vecteur principalement rural, pénétrant peu ou pas dans l'environnement pollué des villes.

Plusieurs observations récentes alertent hélas sur des modifications physiologiques ou comportementales du moustique, qui devient capable de tolérer des niveaux de pollution sans précédent, en particulier dans les gîtes larvaires. Cette pollution peut être de nature très variée : forte teneur en matières organiques, en métaux lourds (tels que Fe, Cu et Pb), en dérivés de raffinage du pétrole ou en polluants chimiques tels que les insecticides, abondamment utilisés en agriculture urbaine pour le maraîchage (ANTONIO-NKONDJIO *et al.*, 2011).

Transmission et changements globaux

Le changement climatique (y compris l'accroissement des températures) auquel la Terre fait face depuis quelques décennies peut avoir des répercussions sur la transmission du paludisme : modification de la distribution des anophèles vecteurs, modification de la densité, de la longévité, du comportement et de la capacité des anophèles à transmettre, modification du développement sporogonique des *Plasmodium*. Si les prévisions alarmistes sur le changement climatique se réalisent dans les prochaines années, on doit alors s'attendre à une modification des zones à risque palustre (risque ne voulant pas dire réalisation). La transmission dépend cependant de nombreux facteurs autres que climatiques. Le paludisme humain n'est pas un modèle simple, mais une mosaïque de systèmes complexes présentant une très grande diversité spatio-temporelle. L'incidence du paludisme dans une zone donnée dépend en particulier des variables suivantes agissant sur les vecteurs, les parasites et l'Homme : climatiques, environnementales, culturelles et également socio-économiques.

Ces paramètres de la transmission sont résumés (et simplifiés) dans la fameuse formule de Ross-Macdonald, caractérisant la capacité vectorielle $= m \cdot a^2 \cdot p^n \cdot b \cdot c / \ln p$, où m = nombre d'anophèles par individu, a = nombre de repas pris sur l'Homme par jour par un anophèle, p = taux quotidien de survie des anophèles, b = taux

de transmission des parasites des anophèles à l'Homme, c = taux de transmission des parasites de l'Homme aux anophèles, n = durée de développement des *Plasmodium* chez le vecteur (MACDONALD, 1957). Dans cette formule, n dépend directement de la température, les *Plasmodium* se développant d'autant plus rapidement dans le corps du moustique que la température est élevée (dans la gamme 18-30 °C). Toutes les autres variables dépendent indirectement de la température, de la pluviométrie et de l'hygrométrie. Les anophèles pondant leurs œufs dans l'eau, on comprend que la présence de collections d'eau (flaques, mares, rivières), dépendante du régime des pluies, va favoriser la multiplication des moustiques (m). L'hygrométrie agit sur la survie p des anophèles, mais également sur les déplacements des femelles pour pondre ou pour trouver un repas sanguin (a). Enfin, la température, la pluviométrie, l'hygrométrie peuvent modifier la distribution des hôtes vertébrés sur lesquels les moustiques se nourrissent, et faire varier a . Ainsi, même de faibles différences de température ou de précipitations sont susceptibles d'avoir un effet sur la capacité vectorielle des moustiques et sur les niveaux de transmission du paludisme.

Mais le climat n'est pas le critère majeur de la présence du paludisme. Historiquement, la répartition de la maladie, essentiellement à *P. vivax* mais aussi à *P. falciparum*, concernait tous les climats et régions, de la Laponie aux zones équatoriales, avec bien sûr un niveau de transmission et une stabilité très supérieurs en régions chaudes et humides. La stabilité et la dangerosité des systèmes épidémiologiques variaient cependant fortement, et le contrôle de la maladie a pu être réalisé avec un succès total en zone tempérée où le paludisme était instable, grâce aux médicaments, aux insecticides, à l'amélioration de l'habitat et à une gestion de l'environnement où vivaient les vecteurs. Lorsque le paludisme est réapparu après avoir été contrôlé, ou même éliminé, c'est presque toujours en raison de changements dans les écosystèmes, de l'apparition de résistances des vecteurs aux insecticides ou des parasites aux

antimalariques, de déficiences dans les stratégies de lutte antivectorielle, ou par défaut de diagnostic ou de prise en charge des malades, mais pas en raison des changements climatiques. Ce fut le cas à Madagascar lors de l'épidémie sur les Hautes Terres en 1985, plus récemment entre 1990 et 2009 en Turquie, et en 2011 et 2012 en Grèce. Dans ces trois cas, ce sont bien des déficiences en matière de gestion de la santé publique couplées à des changements environnementaux (créations de gîtes à anophèles, arrivées de porteurs de parasites) qui ont été à l'origine d'épidémies.

L'analyse des données historiques montre que la composante climatique n'est qu'une variable parmi d'autres concernant le paludisme, mais qui pourrait localement être un facteur additionnel déterminant dans l'apparition de foyers ou d'épidémies, « la goutte d'eau qui ferait déborder le vase » en quelque sorte. En effet, là où le paludisme est instable (zones d'altitude en Afrique, au Sahel, etc.) ou dans des régions où il a été récemment éliminé, des changements climatiques pourraient contribuer à modifier la distribution et l'abondance des espèces et populations de vecteurs et leur capacité vectorielle, et ainsi augmenter ou diminuer l'incidence du paludisme (SIRAJ *et al.*, 2014). C'est ce qui a été prouvé par différents modèles et qui a semble-t-il été observé en zones d'altitude en Afrique de l'Est.

Par ailleurs, l'élévation en cours du niveau de la mer restreindra la disponibilité des terres côtières, générant des changements dans l'épidémiologie du paludisme de ces régions. L'augmentation consécutive des réfugiés climatiques devrait également entraîner un risque supplémentaire de foyers palustres.

Enfin, en Afrique, de nombreux travaux ont montré que les anophèles vecteurs de *Plasmodium* pouvaient s'adapter génétiquement aux changements climatiques et environnementaux, laissant penser que, alors que de nouvelles régions deviendront à risque, en revanche peu de zones devraient voir disparaître leurs vecteurs.

***Wuchereria bancrofti* / filariose lymphatique – éléphantiasis**

La filaire de Bancroft (*Wuchereria bancrofti*) est un ver filiforme qui se développe dans les vaisseaux lymphatiques et qui entraîne une maladie connue sous le nom de filariose lymphatique ou filariose de Bancroft. Le plus emblématique des signes cliniques, apparaissant après des années d'infection, est l'éléphantiasis (les filarioses à *Brugia malayi* et à *Brugia timori*, autres filaires lymphatiques endémiques respectivement en Asie et dans l'île de Timor, entraînent également des éléphantiasis). C'est une maladie d'accumulation en ce sens que la gravité de la pathologie est liée à la charge parasitaire.

Le ver adulte est observé chez l'Homme une année après la piqûre infectante. Le dimorphisme sexuel est important. La filaire mâle adulte mesure 4 cm de long et 1 mm de diamètre, la femelle atteint 10 cm et 2,5 mm, respectivement. Les filaires mâles et femelles forment des couples étroitement pelotonnés dans les gros troncs lymphatiques abdominaux profonds et les ganglions lymphatiques des membres inférieurs et des organes génitaux. Les femelles inséminées sont vivipares et émettent pendant au moins 5 ans des larves de 0,3 mm de long, dites microfilaires, qui rejoignent la circulation sanguine. Elles séjournent dans les vaisseaux sanguins profonds pendant la journée et apparaissent nuitamment dans les vaisseaux superficiels (notamment les capillaires cutanés), d'où leur nom de filaire à périodicité nocturne.

Les vecteurs de ces filaires sont des moustiques qui diffèrent selon les zones du monde :

- en Afrique de l'Ouest et du Centre, ce sont principalement des anophèles comme *An. funestus* et *An. gambiae* s.l. (qui sont aussi vecteurs de *Plasmodium*), si bien que la maladie est essentiellement rurale et de distribution focale, là où la densité de vecteurs est importante ;
- en Afrique de l'Est, en Amériques et aux Antilles, dans l'océan Indien, ce sont des *Culex* comme *Cx. quinquefasciatus*, si bien que la maladie est essentiellement urbaine ;

- en Asie, les vecteurs sont nombreux, impliquant plusieurs espèces du complexe *Cx. pipiens* ou d'autres espèces de *Culex*, des *Anopheles* et des *Aedes* ;
- en Océanie, ce sont des *Aedes*, comme *Ae. polynesiensis*. Ces vecteurs sont essentiellement à activité de piqûre diurne et les microfilaires sont présentes dans le sang périphérique aussi bien pendant la journée que pendant la nuit ; dans ce cas, la filaire est dite aperiodique.

La découverte de l'infection des filaires par des bactéries endosymbiotiques du genre *Wolbachia* a ouvert la voie à des traitements contre les filaires à base d'antibiotiques.

Distribution de la filariose dans le monde Santé publique

La filariose de Bancroft est répandue dans toutes les zones intertropicales. C'est la plus fréquente des filarioses humaines. On la trouve en Asie, en Afrique, en Amérique centrale et du Sud avec, selon l'OMS, 120 millions de personnes infectées réparties dans 73 pays. Quelque 40 millions d'entre elles souffrent de difformités ou de troubles dus à la maladie. Mais la majorité ne présente aucun signe clinique et joue pourtant un rôle important comme réservoir d'infection pour les moustiques.

L'élimination de la filariose lymphatique en tant que problème de santé publique a été proposée par l'OMS. Une association, *Global Alliance to Eliminate Lymphatic Filariasis*, a été créée sous l'égide de cette dernière en 2000, visant l'éradication (i.e. élimination mondiale) du parasite à l'horizon 2020. Pour interrompre la propagation de l'infection, l'OMS recommande de procéder chaque année à des traitements à grande échelle en administrant à toutes les personnes exposées une dose unique combinant deux médicaments (albendazole [400 mg] associé à de l'ivermectine [150-200 mcg/kg] ou à du citrate de diéthylcarbamazine [6 mg/kg]). Ces médicaments ont un effet limité sur les vers adultes, mais sont actifs sur les microfilaires et permettent de bloquer la

transmission en évitant le passage de l'infection aux moustiques. En quatre à six ans, il est possible d'interrompre le cycle de transmission en traitant chaque année toutes les personnes vivant dans les zones où des cas d'infection ont été recensés.

Toujours selon l'OMS, en 2012, 56 pays ont commencé à mettre en œuvre un traitement à grande échelle par l'administration massive de médicaments, et 13 d'entre eux sont déjà entrés en phase de surveillance, qui succède à la phase de traitement de masse. Plus de quatre milliards de traitements individuels ont été distribués, avec des résultats particulièrement nets en Extrême-Orient, et plus contrastés en Afrique (REBOLLO et BOCKARIE, 2013).

Dans les zones où les piqûres de moustiques vecteurs sont observées pendant la nuit (ce qui est le cas en Afrique et en Asie), la lutte antivectorielle utilisant un insecticide à effet rémanent sur les moustiquaires ou à l'intérieur des habitations contribue à protéger la population de l'infection.

Développement de la filaire chez le vecteur (incubation extrinsèque) et chez l'Homme

Les microfilaires sanguines sont ingérées avec le repas de sang et se retrouvent dans l'estomac du moustique. Elles perdent leur gaine, traversent la paroi stomacale puis passent dans la cavité générale pour rejoindre les muscles alaires du thorax, cela en une douzaine d'heures après l'ingestion du repas de sang. Elles se transforment dans les muscles alaires pour donner vers le jour 5 ou 6 un stade larvaire 1, court et épais, dit « en saucisse ». Après deux mues, vers le jour 10 la larve 3 est allongée et elle est morphologiquement mature. Elle rejoint la tête du moustique et pénètre dans le labium d'où elle s'échappe au niveau des labelles lors d'une piqûre, pénètre activement à travers le tégument au point de piqûre et poursuit son développement pour atteindre le stade adulte au bout d'un an. On admet que le rendement parasitaire est très faible : cela s'observe lors la phase du cycle chez

le vecteur et s'explique avec la lésion des microfilaires par les épines de l'armature bucco-pharyngée, et avec le piégeage des microfilaires après la formation de l'enveloppe périthrophique. Un faible rendement s'observe aussi chez l'Homme lors de la phase de croissance, la plupart des larves 3 n'atteignant pas le stade adulte. Le seul événement multiplicatif du cycle biologique concerne la production de milliers de microfilaires chez l'Homme. On admet qu'une densité de 15 microfilaires par 20 mm³ de sang est nécessaire pour l'infection du moustique, mais cette densité ne doit pas dépasser 100 au risque de devenir létale pour le moustique, probablement par surcharge parasitaire dans les muscles alaires entraînant l'impossibilité de voler. Au total, la phase extrinsèque dure 10 à 14 jours.

Les caractéristiques génétiques des souches culicidiennes impactent leur réceptivité pour les filaires. Cette réceptivité constitue un phénotype relativement facile à sélectionner pour des filaires modèles des animaux, permettant d'obtenir des souches de vecteurs à compétence vectorielle élevée ou, à l'inverse, faible.

Selon le genre de moustiques vecteurs, des phénomènes de facilitation parasitaire ou de limitation ont été observés. Chez les anophèles, il y a facilitation, c'est-à-dire augmentation du rendement parasitaire lorsque le nombre de microfilaires ingérées augmente, et au contraire chez les *Aedes* il y a limitation (diminution du rendement parasitaire lorsque le nombre de microfilaires ingérées augmente).

Chez certaines filaires d'animaux du genre *Dirofilaria*, le développement larvaire extrinsèque ne s'effectue pas dans les muscles thoraciques mais dans les tubes de Malpighi.

Arbovirus et virus de la myxomatose

De très nombreux arbovirus sont transmis par les Culicidae, parmi lesquels les Culicinae jouent incontestablement un rôle majeur. Mais les Anophelinae sont également impliqués. Le tableau 10.2 présente les principaux arbovirus isolés d'*Anopheles*, tous pouvant avoir quelque importance en santé humaine. On notera que les vecteurs d'arboviroses majeures (fièvre jaune,

Tableau 10.2 – Les principaux arbovirus transmis par anophèles.

Virus	Caractéristique virale (famille et genre)	Espèces d'anophèles vectrices	Zone d'endémie
O'Nyong-Nyong	Togaviridae, <i>Alphavirus</i>	<i>An. funestus</i> , <i>An. gambiae s.l.</i>	Afrique tropicale de l'Est et du Centre
Ross River	Togaviridae, <i>Alphavirus</i>	<i>An. amictus</i> , <i>An. annulipes</i>	Australie et Pacifique Sud
Tataguine	Bunyaviridae	<i>An. funestus</i> , <i>An. gambiae s.l.</i> , <i>An. nili</i>	Afrique tropicale
Nyando	Bunyaviridae	<i>An. funestus</i> , <i>An. gambiae s.l.</i>	Afrique tropicale
Cache Valley	Bunyaviridae <i>Orthobunyavirus</i>	<i>An. quadrimaculatus</i>	Amérique du Nord
Potosi	Bunyaviridae, <i>Orthobunyavirus</i>	<i>An. punctipennis</i>	Amérique du Nord
Trubanaman	Bunyaviridae	<i>An. annulipes</i>	Australie
Fièvre de la Vallée du Rift	Bunyaviridae <i>Phlebovirus</i>	<i>An. coustani</i> , <i>An. squamosus</i>	Afrique, Madagascar

dengue, chikungunya, encéphalite japonaise, Crimée-Congo, Zika...) ne sont pas des anophèles (mais d'autres moustiques Culicinae ou des tiques).

D'autres arbovirus également transmis par des anophèles ont quelque importance en santé animale : Kowanyama, Mapputta, Sindbis, Eubenangee, virus de la fièvre éphémère bovine...

Le virus de la myxomatose (Poxviridae, *Leporipoxvirus*) affecte les lagomorphes et il est particulièrement pathogène pour les lapins européens ou d'origine européenne (notamment les lapins introduits en Australie). Ce virus n'est pas un arbovirus puisque aucun cycle d'infection n'a pu être observé chez un insecte. Sa transmission est vectorielle et mécanique, mais ce n'est pas une transmission vectorielle biologique (voir chap. 2). Le virus est résistant et conserve durablement son pouvoir infectieux hors de son hôte vertébré ; il résiste en particulier sur le revêtement externe des pièces vulnérantes des insectes hématophages. En conséquence, de nombreux insectes piqueurs en sont vecteurs, dont les anophèles tels qu'*An. maculipennis s.l.* en Camargue et *An. annulipes* en Australie. Originaire d'Amérique latine, le virus de la myxomatose a été délibérément introduit comme agent de lutte biologique contre les lapins en Europe puis en Australie, continents où le virus se maintient manifestement depuis lors.

SURVEILLANCE, PRÉVENTION, LUTTE

La surveillance strictement entomologique concerne l'observation des vecteurs quant à la modification de leur aire de répartition – en particulier l'invasion de nouveaux territoires –, leur modification de densité, par exemple à la suite d'un changement dans l'environnement, d'un événement climatique exceptionnel ou après l'apparition d'une résistance aux insecticides. Plus largement, la surveillance s'intéresse aussi aux pathogènes à transmission vectorielle

et à leurs manifestations épidémiques. Face à un événement de ce type, l'activité de surveillance débouche naturellement sur la mise en place d'une série de mesures ou de ripostes pour préserver ou pour restaurer la santé publique.

La prévention et la lutte antivectorielle s'entendent soit en activité de routine, soit comme suite donnée à une activité de surveillance.

La prévention, dans le domaine de l'entomologie médicale et vétérinaire, consiste à mettre en place des moyens pour échapper à la nuisance des piqûres et à la transmission vectorielle. Ces moyens préventifs relèvent d'aménagement de l'environnement, y compris de l'habitat, et de modifications des comportements. Relativement faciles à instaurer, ces moyens sont mis en place à l'échelle individuelle ou familiale.

La lutte antivectorielle s'attaque directement aux vecteurs, avec la finalité de les éliminer, ou plus modestement de réduire leur densité ou leur longévité. Les indications pour la lutte antivectorielle portent sur la prévention et la lutte contre les épidémies, le contrôle de la transmission dans les zones à risques ainsi que dans les zones endémiques. La lutte antivectorielle requiert souvent de gros moyens opérationnels et organisationnels ; aussi est-elle souvent menée par des spécialistes expérimentés dans le cadre de programmes régionaux ou nationaux.

Pour le suivi et l'évaluation des opérations de prévention et de lutte, dans leur fonctionnement comme dans leur résultat, des indicateurs pertinents doivent être identifiés. Selon les contextes et les objectifs, ces indicateurs sont des variables entomologiques relatives à la nuisance ou au vecteur, des variables concernant la transmission de l'agent infectieux vectorisé ou des variables de santé publique relative à la morbidité ou à la mortalité.

Surveillance

La surveillance porte principalement sur les anophèles invasifs, les zones à potentiel épidémique et l'évolution de la résistance aux insecticides.

Anophèles invasifs

Les anophèles ne sont pas particulièrement prédisposés à devenir des espèces invasives. Ils n'ont pas d'œufs résistants à la dessiccation et ne sont pas autogènes. De plus, ils utilisent surtout des gîtes larvaires naturels et ne peuvent pas subsister durablement, sur plus d'une génération, dans un bateau. Mais l'accélération des vitesses de déplacement, en particulier par voie aérienne, permet maintenant à une femelle d'anophèle inséminée d'être transportée en quelques heures dans pratiquement tous les continents et les îles. Les exemples ci-après, avec *P. falciparum* comme agent pathogène, sont particulièrement riches d'enseignements. Ils illustrent le vaste domaine de la biologie des invasions, qui procède en trois étapes principales : introduction, établissement et dissémination.

L'introduction d'anophèles non suivie d'implantation est un phénomène dont on ignore largement la fréquence car, sans conséquence notable, elle passe inaperçue. Mais il existe certaines situations où les anophèles vecteurs originaires de zone d'endémie palustre sont détectés s'ils sont introduits infectés par voie aérienne en zone indemne de transmission. Cette introduction anthropique des anophèles entraîne des cas de paludisme d'aéroport. Il s'agit de cas particulier de paludisme autochtone, puisque ce n'est pas un cas index qui amène le parasite depuis une zone d'endémie, mais un vecteur infecté. Trente cas ont été déclarés en France entre 1969 et 2008 (75 cas en Europe occidentale entre 1977 et 2000), sur des personnes n'ayant pas voyagé en zone d'endémie pendant les 12 mois précédents et qui fréquentent ou vivent à proximité d'une zone aéroportuaire. Ces cas sont plus graves que la moyenne des cas car ils sont principalement dus à *P. falciparum*, et touchent des personnes non prémunies et pénalisées par un certain retard du diagnostic.

Les deux étapes ultérieures d'établissement et de dissémination sont parfois délicates à délimiter l'une par rapport à l'autre.

Zones à potentiel épidémique

L'impact d'une invasion d'anophèles peut être désastreux sur des populations non ou faiblement immunes. L'histoire du paludisme en présente de nombreux exemples.

- Quelque 130 000 décès par paludisme ont été enregistrés en Égypte en 1942 à la suite de l'introduction par le sud du pays d'un vecteur efficace, d'espèce non déterminée (LAMBRECHTS *et al.*, 2011).

- L'ouverture de la ligne de bateaux à vapeur entre Madagascar et l'Île Maurice en 1864 a coïncidé avec l'épidémie de paludisme survenue en 1865 à Maurice. Cette épidémie a fait suite à l'introduction d'*An. gambiae s.l.* et d'*An. funestus*. On s'accorde à penser que c'est un cyclone qui a permis l'introduction d'*An. gambiae s.l.* depuis Maurice vers la Réunion (distants de quelque 200 km), où une épidémie a éclaté en 1868. Aux Seychelles, plus précisément sur les îles d'Aldabra, c'est encore *An. gambiae s.l.*, introduit par voie maritime depuis Madagascar ou depuis l'Afrique de l'Est, qui a été responsable d'une épidémie en 1930. Pour ces trois exemples pris dans le sud-ouest de l'océan Indien, les vecteurs incriminés n'étaient pas autochtones, alors que les souches du parasite *P. falciparum* préexistaient dans la population humaine (MOUCHET *et al.*, 2004).

- À une tout autre échelle de distance, *An. arabiensis* a traversé de part en part l'océan Atlantique. Il a été introduit depuis la côte Ouest de l'Afrique à Natal, au Brésil, en 1930, déclenchant une épidémie en 1930-1931. Des traitements insecticides ont réglé localement le problème, mais certains moustiques se sont dispersés dans tout le nord-est du Brésil, en particulier le long des cours d'eau, causant de graves épidémies en 1938-1939. À cette époque, le paludisme était endémique au Brésil, mais les vecteurs autochtones avaient une capacité vectorielle bien moindre que celle d'*An. arabiensis* pour des souches parasitaires également d'origine africaine. Une campagne d'élimination d'*An. arabiensis* à l'échelle de plusieurs états du Brésil a été entreprise sous l'égide de la

Fondation Rockefeller, ciblant prioritairement les stades larvaires. L'élimination a été atteinte en 1941, immédiatement accompagnée d'une chute de l'incidence du paludisme (KILLEEN *et al.*, 2002). Dans l'histoire du paludisme, ces événements sont riches d'enseignement car ils démontrent que l'élimination durable d'un vecteur est possible, au moins pour une espèce introduite que l'on peut supposer moins bien adaptée que les espèces autochtones.

- Parmi les espèces anophéliennes du Nouveau Monde, *An. darlingi* est un vecteur majeur de *Plasmodium* dans le bassin amazonien. Avant les années 1990, il était totalement absent dans la région péruvienne d'Iquito, en Haute Amazonie. Mais des populations invasives d'*An. darlingi* se développant dans des bassins de pisciculture ont été impliquées dans une épidémie en 1997 à Iquito. Là encore, l'introduction d'un vecteur à plus forte capacité vectorielle que les vecteurs autochtones a été à l'origine d'une épidémie de *Plasmodium* autochtones.

- Tout récemment, en 2013 et 2014, des épidémies ont éclaté dans la ville de Djibouti à la suite d'une introduction d'*An. stephensi*, introduction détectée en septembre 2012 (FAULDE *et al.*, 2014). Jusqu'alors, la répartition de cet excellent vecteur se limitait vers l'ouest au Golfe persique. Cette observation est alarmante, car c'est la première observation sur le continent africain de cet anophèle tout à fait particulier, qui utilise toute sorte de récipients artificiels comme gîtes larvaires et qui est bien adapté au faciès urbain.

- Enfin, une épidémie est survenue à la suite de l'apparition d'une résistance aux insecticides en Afrique du Sud (COETZEE et KOEKEMOER, 2013). Dans la région du KwaZulu-Natal, le DDT en aspersions murales de routine avait été remplacé en 1996 par un pyréthrianoïde. Mais, à la suite de l'augmentation croissante des cas de paludisme (avec plus de 1 000 décès) enregistrés entre 1997 et 2000, une résistance d'*An. funestus* aux pyréthrianoïdes a été détectée et il a fallu revenir au DDT (en mars 2000) pour maîtriser le vecteur et juguler l'épidémie.



Figure 10.16 – Agents de l'ARS-OI (Agence de santé dans l'océan Indien) et de l'IRD se rendant sur des gîtes d'*Anopheles arabiensis* dans la ravine des galets, Île de la Réunion.

© IRD/G. Villegier

Évolution de la résistance aux insecticides

L'impact des actions de lutte antivectorielle se manifeste particulièrement dans le domaine des résistances aux insecticides. La détection de ces résistances et la compréhension des mécanismes impliqués font l'objet de recherches intensives. Il est vrai que les enjeux sont énormes. On s'interroge par exemple sur la réalité de la protection qu'apportent les moustiquaires imprégnées de pyréthrianoïde dans un contexte de haute résistance des anophèles à cette classe d'insecticides, difficilement remplaçable sur les moustiquaires. L'OMS appelle les pays d'endémie à élaborer et à appliquer des stratégies complètes pour maîtriser la résistance aux insecticides et à effectuer une surveillance entomologique et un suivi de la résistance.

Il est difficile de brosser un tableau précis et actualisé de la résistance, car la situation est rapidement changeante, avec des anophèles très réactifs selon des processus d'adaptation/sélection, en réponse à de nouveaux traitements insecticides ou à de nouvelles stratégies de lutte

qui incorporent une composante insecticide. Selon l'OMS, la résistance des moustiques aux insecticides utilisés en santé publique a été observée dans 64 pays du monde, chez tous les vecteurs majeurs et pour toutes les classes d'insecticides. Publié en mai 2012, le Plan mondial pour la gestion de la résistance aux insecticides chez les vecteurs du paludisme recommande notamment l'utilisation d'insecticides en alternance pour la pulvérisation intradomiciliaire.

On estime que quatre mécanismes principaux de résistance aux insecticides coexistent :

- la résistance métabolique fonctionne selon une détoxification de la molécule insecticide ou de ses métabolites. Cette résistance impliquant fréquemment des acétylcholinestérases concerne principalement les organophosphorés et les carbamates ;
- la résistance modifiant le site cible de la molécule insecticide, en particulier le récepteur, est de type génétique. La résistance de type *knock down resistance* (*knock down resistance*) relève de ce type et concerne principalement les organochlorés et les pyréthrinoïdes ;
- la résistance de pénétration, par exemple au niveau cuticulaire ;
- la résistance comportementale, permettant au moustique l'évitement du contact avec un support imprégné.

La résistance de pénétration et la résistance comportementale sont deux mécanismes possibles mais moins bien documentés que les deux premiers (RANSON *et al.*, 2011 ; RIVERO *et al.*, 2010 ; GATTON *et al.*, 2013).

Prévention individuelle et familiale : la Protection Personnelle AntiVectorielle (PPAV)

La protection contre les piqûres de moustiques est la première ligne de prévention contre la nuisance et contre les maladies.

La PPAV doit être facilement compréhensible dans son principe et d'application simple, car elle

s'adresse à tout un chacun et sa mise en œuvre s'opère dans un cadre familial ou individuel (PPAV Working Group, 2011). Elle vise à limiter, voire à éliminer, les sources de moustiques dans les environnements immédiats du lieu d'habitation et à dresser tout un système de barrières, physiques et chimiques, réduisant le risque que les moustiques atteignent les sujets humains et ingèrent et/ou inoculent les agents pathogènes. La PPAV efficace à 100 % n'existe pas ; c'est pourquoi on associe de façon coordonnée plusieurs méthodes pour réduire autant que possible les risques de piqûres et d'inoculation des agents pathogènes. L'emploi de plusieurs mesures physiques (vêtements, moustiquaires) et chimiques (répulsifs, insecticides) maximalise, par leur association, l'effet protecteur contre les piqûres d'anophèles.

Les actions de la PPAV sont souvent répétitives et sont vécues par l'utilisateur comme contraignantes. Cela est associé à un certain laxisme dans le suivi des mesures qui, en retour, limite l'efficacité de cette prévention.

Contre les piqûres de moustiques, on peut structurer l'espace où les actions à mettre en œuvre diffèrent : autour de la maison (aménagement de l'espace péri-domestique pour détruire les gîtes larvaires), dans la maison (mise en place de grillage moustiquaire aux portes et fenêtres, de rideaux imprégnés, aspersion murale d'insecticide), dans la chambre à coucher (moustiquaire imprégnée), sur soi (répulsif, vêtements imprégnés) (CARNEVALE *et al.*, 2012).

Un répulsif est une substance naturelle ou de synthèse qui présente une propriété répulsive vis-à-vis des arthropodes hématophages. Repoussant le vecteur potentiel, elle limite le contact Homme-vecteur. Les substances actives dans la plupart des formulations répulsives du commerce sont le DEET, la picaridine (icaridine ou KBR3023), l'IR3535 et le PMDRBO (p-menthane 3,8-diol Rich Botanical Oil, ou PMD, commercialisé sous le nom de Citriodiol). Des recommandations portent sur le pourcentage minimum de principe actif dans

la formulation pour conférer au moins 4 heures de protection en condition de terrain. En raison de leur durée d'efficacité (en général inférieure à 20 minutes) vis-à-vis des principaux anophèles vecteurs et des risques allergiques et photosensibilisants reconnus, il est recommandé de ne pas utiliser des huiles essentielles comme répulsif cutané.

Les vêtements et tissus (rideaux) imprégnés sont des éléments de protection conçus comme un complément des répulsifs cutanés. La perméthrine est la principale matière active utilisée pour l'imprégnation des vêtements en raison de son innocuité. Pour les tissus et autres rideaux, d'autres pyréthrinoides conviennent également. La résistance au lavage est une donnée à prendre en compte pour évaluer la durée de protection conférée par l'imprégnation, variable selon la nature du tissu, le type d'imprégnation, etc.

La plupart des anophèles vecteurs de *Plasmodium* ayant une activité de piqûre nocturne, la moustiquaire de lit apporte une réelle solution pour se prémunir du paludisme. Ses dimensions doivent être assez vastes pour éviter une chaleur accrue sous le voilage, en particulier dans les pays chauds. Les contraintes d'usage sont : une moustiquaire en bon état, correctement bordée pour ne pas laisser de passage aux moustiques ; la peau du dormeur doit rester en retrait du tissu de la moustiquaire, sous risque de piqûre d'un moustique à travers les mailles de celle-ci. L'utilisation de moustiquaires de lit et/ou de berceau est la mesure de PPAV qui doit être privilégiée pour les nourrissons avant l'âge de la marche. L'imprégnation avec un insecticide pyréthrinoidé accroit considérablement la protection, car la barrière chimique pallie les déficiences de la barrière physique. L'effet répulsif de l'insecticide est ici un avantage. L'OMS ne recommande pas l'imprégnation avec une autre classe d'insecticides, sur la base de l'innocuité des pyréthrinoides pour les mammifères et de leur rapidité d'action (on parle d'effet insecticide assommant, *knock down*). L'imprégnation est désormais réalisée par les fabricants au niveau industriel, avant la commercialisation, conférant plusieurs années d'efficacité (on parle de

moustiquaires à imprégnation durable (MID), *long lasting impregnated net* en anglais). En pratique, on estime la durée de vie d'une moustiquaire à 3 ans, soit moins que la durée d'efficacité de l'imprégnation, si bien qu'on ne réimprègne plus les moustiquaires. Outre la protection individuelle, les moustiquaires imprégnées utilisées en masse par toute une population peuvent constituer un véritable moyen de lutte antivectorielle (voir *infra*).

Les serpentins fumigènes sont largement utilisés, mais leur usage est uniquement recommandé à l'extérieur des maisons. Ils sont formés d'un support composé de substances végétales à combustion lente de type sciure de bois et d'un insecticide, généralement de la famille des pyréthrinoides et du groupe des alléthrinés. Lorsque le serpentín se consume, la fumée libère l'insecticide à un taux constant pendant la combustion qui dure de 6 à 8 heures. Mais le vent active grandement la combustion. Les serpentins, ainsi que les plaquettes chauffantes qui utilisent un procédé comparable et des insecticides identiques, sont au mieux considérés comme des méthodes d'appoint.

La lutte antivectorielle dans la lutte antipaludique – Bref historique

S'il faut seulement retenir trois dates de l'histoire du paludisme et de la lutte antivectorielle, on s'accorde généralement sur les suivantes.

- 1880, Alphonse Laveran, médecin français résidant à Constantine en Algérie, met en évidence la nature parasitaire des fièvres palustres en observant des gamétocytes puis une exflagellation lors d'un examen d'une goutte de sang, à l'état frais et sans coloration, d'un soldat hospitalisé.
- 1897, Ronald Ross, médecin anglais, résidant à Secunderabad (Inde), observe des oocystes sur l'estomac de deux *dapple-wing mosquitoes* (moustiques à ailes tachetées, donc anophèles) s'étant gorgés sur un sujet humain porteur de gamétocytes quelques jours auparavant. Il utilise l'année suivante un modèle animal avec des

Plasmodium aviaires (*P. danilewskyi* transmis par *Culex pipiens*) et observe des sporozoïtes dans les oocystes, leur invasion des glandes salivaires et l'infection expérimentale d'oiseaux sains piqués par des moustiques s'étant gorgés sur des oiseaux infectés. Peu après, en 1901-1902, au Sierra Leone, Ross démontre l'évolution des *Plasmodium* chez *An. gambiae* (à l'époque *An. costalis*) et *An. funestus*. Il mène également des opérations contre les moustiques et plaide pour la lutte antivectorielle comme méthode de prévention qu'il expose dans son livre *Prevention of malaria* (ROSS, 1911). En 1898 et 1899, l'école italienne de parasitologie, sous l'impulsion de Bastianelli, Bignami et Grassi, rapporte la présence des stades de développement des *Plasmodium* sur l'estomac de deux *An. claviger* gorgés sur un sujet porteur de gamétocytes, et réussit la première infection expérimentale d'un sujet humain à Rome en le faisant piquer par des anophèles capturés dans la région, et enfin elle décrit finement le développement extrinsèque de *P. falciparum* puis de *P. vivax* chez *An. claviger*.

- 1939, Paul Hermann Müller, chimiste suisse, découvre les propriétés insecticides et acaricides du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), molécule organochlorée déjà synthétisée au XIX^e siècle. La production industrielle de DDT et son emploi massif datent de la Seconde Guerre mondiale, durant laquelle il a abondamment été utilisé par les militaires américains pour contrôler les moustiques et les poux afin de se protéger du paludisme et du typhus exanthématique. En 1955, l'OMS envisage un programme mondial d'éradication du paludisme reposant principalement sur l'utilisation du DDT et de médicaments antimalariques comme la chloroquine. Le DDT a été remarquablement efficace dans la plupart des pays où il a été employé dans la lutte contre le paludisme : les meilleurs exemples sont à relever au Sri Lanka ou en Inde, où une décennie d'aspersions intradomiciliaires avait réduit de plus de 90 % les cas de paludisme. Madagascar et le KwaZulu-Natal sont deux exemples récents de la réussite du DDT. Mais des résistances à cet insecticide et la modification de comportements

d'évitement des vecteurs (devenus exophiles) ont rendu cette stratégie inopérante. Aujourd'hui, le DDT est interdit pour toute utilisation autre que de santé publique (il reste notamment utilisé en aspersion intradomiciliaires contre les anophèles endophiles à la dose de 2 mg m.a./m²).

Tous trois, Laveran, Ross et Müller, ont été respectivement lauréats du prix Nobel de physiologie ou médecine en 1907, 1902 et 1948.

Les principaux types de lutte antivectorielle

Les méthodes de lutte contre les anophèles sont choisies en fonction de l'effet recherché : limitation du contact hôte/vecteur, action sur la densité ou action sur la longévité.

La lutte antivectorielle est une composante importante de la prévention.

Lutte physique : aménagement de l'environnement

La lutte physique, ou mécanique, vise à modifier l'environnement pour que ce dernier ne soit plus propice au développement préimaginal des moustiques. Ces modifications de l'environnement pour le contrôle des vecteurs procèdent de transformations physiques aussi durables que possible sur le sol, l'eau, la végétation afin de prévenir, éliminer ou réduire les habitats des vecteurs sans entraîner d'effets adverses à la qualité de l'environnement humain. Ces actions comprennent le drainage, le remplissage, la remise à niveau, la transformation des zones à risque. Elles se veulent permanentes, mais elles exigent un contrôle régulier pour que leur bon fonctionnement soit vérifié.

L'assèchement des marais est un procédé classique de lutte par modification intentionnelle de l'environnement dans un sens défavorable aux pullulations de moustiques. De telles actions sont déjà mentionnées dans les écrits d'Hippocrate, 400 ans av. J.-C. Le lien entre les marécages et les fièvres est en effet reconnu depuis des siècles, antérieurement à la découverte de la transmission des *Plasmodium* par les moustiques. L'assèchement des marais

Pontins en Italie, dans les années 1930, en constitue un exemple. Cette action sur l'environnement reste toujours recommandée dans le type d'actions qu'il est convenu aujourd'hui d'appeler en anglais *source reduction*.

La rectification de la salinité par l'ouverture de canaux et la construction de digues peuvent être conseillées car elles constituent des modifications de l'environnement parfois défavorables aux anophèles vecteurs et évitent ainsi l'épandage d'insecticides. Mais l'agriculture irriguée – incluant la riziculture – est responsable de la création, en Afrique tropicale, des grands gîtes propices au développement de vecteurs, *An. gambiae* en Afrique continentale, mais aussi *An. funestus* à Madagascar et en Afrique de l'Est, à l'origine d'épidémies dans les zones à paludisme instable. La construction de lacs collinaires dans le Maghreb pour permettre au bétail de s'abreuver entraîne les mêmes effets : ces lacs constituent des gîtes larvaires propices à *An. labranchiae*. On voit donc que les modifications de l'environnement se révèlent favorables ou défavorables aux populations d'anophèles vecteurs, selon le contexte, et qu'il est difficile de dégager des généralités.

L'irrigation alternée dans les rizières est un principe intéressant visant à des assèchements périodiques pour tuer les larves qui ne résistent pas à la dessiccation. Mais, en pratique, l'assèchement n'est pas total. Quelques flaques se maintiennent dans les casiers (non parfaitement nivelés) et constituent de remarquables gîtes à anophèles.

L'intervention sur l'habitat lui-même est bien sûr envisageable. Ainsi, la construction des habitations à distance des eaux servant de gîtes à moustiques est une mesure de bon sens pour réduire le contact hôte/vecteur.

L'OMS et ses groupes d'experts ont élaboré des guides pratiques (*guidelines*) pour faciliter la prise en considération du volet « santé publique » inéluctablement lié à toute modification de l'environnement. Ces modifications sont envisagées en fonction de l'échelle spatiale : concernant de grandes surfaces, pour les travaux de type

barrages, routes, zones d'agriculture irriguée, déforestation ; ou bien, au contraire, portant sur des microchantiers comme les trous d'emprunt de terre pour faire des briques pour construire les maisons, par exemple. Tout cela relève de l'hygiène générale du milieu ainsi que d'éducation sanitaire.

Lutte chimique : les insecticides antianophéliens actuels (larvicides, adulticides)

Moustiquaires imprégnées

Les moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes constituent un moyen essentiel de prévention du paludisme. L'utilisation à large échelle de ces moustiquaires a contribué à réduire la morbidité et la mortalité palustres. Une étude récente en Afrique tropicale a conclu qu'entre 2000 et 2015 les trois principales actions de lutte contre le paludisme (moustiquaires imprégnées, traitement antimalarique utilisant une combinaison avec un dérivé de l'artémisine, et pulvérisation domiciliaire d'insecticide) ont évité 663 millions de cas de *P. falciparum*, parmi lesquels 68 % sont dus aux moustiquaires, 22 % aux traitements antimalariques et 10 % aux pulvérisations (BHATT *et al.*, 2015). La prise en compte du coût est également en faveur des moustiquaires puisque l'OMS estime que le moyen le plus efficace et le moins coûteux d'y parvenir est de distribuer des moustiquaires à imprégnation durable.

Il est important de noter que les moustiquaires imprégnées présentent désormais une activité insecticide durable, en pratique aussi longtemps que la durée de vie de la moustiquaire. Cette avancée technologique a été cruciale.

Les moustiquaires imprégnées protègent prioritairement ceux qui dorment dessous. Mais pas seulement. L'usage généralisé, dit de masse, de la moustiquaire imprégnée agit collectivement sur l'ensemble de la communauté par son effet insecticide en tuant les anophèles et/ou par son effet répulsif en les repoussant hors de la zone d'habitation. Toutefois, l'utilisation massive de la moustiquaire a produit un effet adverse sur le comportement et la sélection de certaines

populations de vecteurs qui ont modifié leur période de recherche d'hôte, évitant ainsi le moment où l'hôte humain est protégé sous la moustiquaire (RUSSELL *et al.*, 2011 ; SOUGOUFARA *et al.*, 2014). La moustiquaire imprégnée (au même titre que la plupart des méthodes de lutte antivectorielle) trouve également une limite d'utilisation contre les vecteurs exophiles et exophages, notamment ceux rencontrés dans le Sud-Est asiatique.

Une préoccupation majeure pour l'avenir est qu'il n'existe pas de véritable moyen de prévention qui peuvent rapidement se substituer aux moustiquaires imprégnées. Malheureusement, des résistances des anophèles aux pyréthrinoides se généralisent.

Aspersions domiciliaires

L'aspersion murale d'insecticide à l'intérieur des maisons, particulièrement dans la chambre à coucher, est une autre voie majeure de lutte antivectorielle. Historiquement, c'est surtout un organochloré, le DDT, qui a été utilisé. Cet insecticide garde une réelle efficacité et reste utilisé en Afrique et en Asie, mais il est remplacé par les pyréthrinoides dans les zones où la résistance au DDT est généralisée. L'efficacité des aspersions domiciliaires dépend fortement du comportement du vecteur, et en particulier de sa propension à entrer dans les maisons et à y séjourner (endophilie), ainsi qu'à s'y nourrir de sang (endophagie).

Principaux insecticides utilisés

Les principales classes d'insecticide utilisées contre les anophèles sont les suivantes :

- les organochlorés : très utilisés de 1940 à 1970, mais leur emploi est en très nette régression. Ce sont des insecticides de contact. Les organochlorés sont des toxiques neurotropes qui altèrent le fonctionnement des canaux sodium indispensables à la transmission de l'influx nerveux. Leur spectre d'action est large. Le DDT, par exemple, agit sur l'insecte par contact et ingestion, induisant un tremblement généralisé (incoordination motrice) puis une paralysie.

Dans les conditions normales d'utilisation, la toxicité aiguë des organochlorés envers l'Homme est relativement faible. Ces substances sont très stables et bioaccumulables, donnant des produits de dégradation encore plus stables, peu solubles dans l'eau, d'où des problèmes d'accumulation dans les organismes et les écosystèmes via les chaînes alimentaires. Certains peuvent persister très longtemps dans les sols, les tissus végétaux et les graisses ; c'est pourquoi ils sont maintenant d'utilisation très encadrée.

Exemples : Dieldrine, DDT ;

- les organophosphorés : ils sont nombreux et hétérogènes. Leur point commun est un mode d'action sur le système nerveux par inhibition de la cholinestérase, qui est bloquée sous une forme inactive ; de ce fait, l'acétylcholine s'accumule au niveau de la synapse, empêchant la transmission de l'influx nerveux et entraînant la mort de l'insecte. Ce mode d'action explique leur notable toxicité vis-à-vis de l'Homme et des vertébrés à sang chaud. À la différence des organochlorés, les organophosphorés présentent une toxicité aiguë élevée, mais une faible rémanence. Ils pénètrent facilement dans l'organisme des insectes par leur liposolubilité élevée.

Exemples : malathion, fénitrothion, chlorpyrifos, téméphos, etc. ;

- les carbamates : ce vaste ensemble regroupe les dérivés de l'acide carbamique, qui agissent comme les organophosphorés, en inhibant la cholinestérase. Ils agissent le plus souvent par contact. Sauf exception, leur rémanence est généralement faible.

Exemples : BPMC, carbaryl, propoxur, bendiocarbe, carbofuran, etc. ;

- les pyréthrinoides de synthèse : insecticides dits « de troisième génération », ils sont copiés sur les pyrèthres naturels, en cherchant à augmenter leur toxicité et leur photostabilité. Dotés d'une toxicité considérable et agissant par contact, ils tuent presque instantanément les insectes par effet choc neurotoxique, ce qui permet de les utiliser à des doses très réduites. Comme les organochlorés, ils tuent l'insecte en bloquant le fonctionnement des canaux

sodium indispensables à la transmission de l'influx nerveux. Ils sont réputés peu toxiques pour les mammifères, et on leur attribue le coefficient de sécurité (rapport des toxicités pour les insectes et pour les mammifères) le plus élevé parmi les insecticides chimiques. Très biodégradables et donc peu persistants, ils sont en revanche très toxiques pour certains organismes aquatiques (poissons) ainsi que pour les auxiliaires de l'agriculture, dont les abeilles. Exemples : bifenthrine, bioresméthrine, deltaméthrine, étoufenprox, cyperméthrine, cyfluthrine, alphaméthrine, perméthrine, lambda-cyhalothrine, etc. ;

– les perturbateurs endocriniens : ces insecticides se caractérisent par un mode d'action qui perturbe la mue. Deux catégories de produits sont utilisables dans la lutte contre les larves d'anophèles.

Les juvénoides régulateurs de croissance sont des analogues de l'hormone juvénile. Ils inhibent la nymphose. Le produit n'est pas toxique par lui-même, mais la mort survient avant la nymphose ou bien en cours de stade nymphal ou bien encore, plus rarement, c'est l'adulte qui meurt au moment de l'émergence. Ce produit a une durée de vie assez courte et son application pose alors des problèmes opérationnels, en particulier pour vérifier son efficacité sur le terrain, puisque la mort des moustiques est lente à se manifester. Exemple : méthoprene.

Les benzoylurées inhibent la sclérisation du tégument de la larve après une mue larvaire ou nymphale. La chitine synthétase est le site actif. Ils entraînent la mort quel que soit le stade de développement préimaginal. Le délai d'action est de 2 à 7 jours. Leur demi-vie est de 2 semaines. Les difficultés opérationnelles sont similaires à celles des juvénoides, pour les mêmes raisons. Ils sont faiblement toxiques pour l'Homme. Exemple : diflubenzuron ;

– les insecticides d'origine végétale : ils sont extraits de diverses plantes par macération, infusion ou décoction. Exemples : le pyrèthre et ses dérivés, les roténonnes, la nicotine, des alcaloïdes, le géranol, etc. ;

– les insecticides d'origine bactérienne : certains bacilles Gram positif, aérobies et sporulés, comme *Bacillus thuringiensis* ou *B. sphaericus*, se retrouvent dans pratiquement tous les sols, dans l'eau, l'air et le feuillage des végétaux. Ils se distinguent des autres bacilles par une capacité à synthétiser et excréter des cristaux protéiques mortellement toxiques par ingestion pour certains insectes (dont certains lépidoptères, coléoptères et diptères), mais sans danger pour la faune non cible dont les sujets humains. Ils constituent des biolarvicides contre les anophèles.

La découverte du sérotype *israelensis* du *B. thuringiensis* (*Bti*), très actif contre les larves de certains moustiques, a ouvert de nouveaux marchés. La rémanence est faible. Puisque la toxine se trouve dans la fraction cristalline, les bactéries sporulées peuvent être utilisées vivantes ou mortes, indifféremment. Les enzymes digestives de la larve dégradent le cristal de la spore, libérant la molécule active, et la larve meurt en quelques heures, même si elle est résistante aux insecticides classiques. D'ailleurs, le *Bti* est souvent utilisé en rotation avec un ou plusieurs autres insecticides lorsqu'il y a résistance. Le problème opérationnel majeur du *Bti* tient à sa faible flottabilité (quelques heures), et, comme les larves d'anophèles se nourrissent en surface, si le produit est au fond du gîte, il n'est plus actif. Pour pallier cet inconvénient, le produit est aussi formulé sous forme de briquettes ou de granules à relargage lent. Le produit est très efficace et sans danger pour l'environnement, mais il nécessite un traitement régulier des gîtes et pose donc des problèmes opérationnels.

La lutte contre les anophèles a peu utilisé *B. sphaericus*, car les larves y sont peu sensibles et les concentrations en insecticide doivent être très élevées.

Lutte biologique

La lutte biologique est définie comme l'utilisation de prédateurs, parasites ou pathogènes. Le lâcher de mâles stériles relève également de ce type de lutte lorsque le génome de ces moustiques n'est pas modifié.

En matière de lutte anti-anophélienne, c'est surtout les poissons larvivores qui ont été utilisés. Les champignons entomopathogènes, quant à eux, présentent un potentiel intéressant.

Les poissons larvivores

Les poissons larvivores ont été employés dès que le rôle des moustiques dans la transmission du paludisme a été identifié. Ce sont d'ailleurs les seuls agents biologiques réellement utilisés en termes opérationnels. Le poisson *Gambusia affinis* (femelle de 7 cm et mâle de 3 cm), originaire des eaux douces d'Amérique du Nord, supporte les eaux saumâtres ou faiblement chargées en oxygène. Il a été introduit dans de nombreux pays chauds, où il se comporte maintenant comme une espèce invasive. Malheureusement, il n'est pas seulement larvicide envers les larves de moustiques mais omnivore, dévorant aussi les œufs des autres poissons et le zooplancton. Des résultats positifs ont été obtenus en Inde en zone rizicole, à raison de 5 poissons /m², et dans des puits, avec de nettes réductions de la population larvaire. Un autre poisson, *Poecilia reticulata* ou Guppy (femelle de 6 cm et mâle de 4 cm), originaire d'Amérique du Sud, a également été intensivement utilisé, présentant l'avantage de supporter des eaux plus polluées et chargées en matières organiques, mais il est aussi un vorace prédateur pour la faune non cible. Il a été introduit avec succès pour la lutte antilarvaire dans les puits et les rivières en Inde, dans les citernes d'eau de boisson à Grande Comore, ainsi que dans les rizières d'Indonésie. D'autres essais menés avec des espèces locales de poissons ont été réalisés dans des citernes en Somalie et des puits à Djibouti, là encore avec succès.

Les agents biologiques autres que les poissons (virus, champignons, nématodes, prédateurs, etc.) ont fait l'objet d'une abondante littérature et d'essais aussi nombreux que limités dans le temps et l'espace. Pour l'instant, les résultats obtenus ne permettent pas de les recommander dans l'arsenal de la lutte antivectorielle.

Champignons entomopathogènes

La survie des champignons entomopathogènes, et leur reproduction, est dépendante de l'infection d'insectes-hôtes et entraîne invariablement la mort de ces insectes.

Ces champignons se fixent généralement à la surface externe du corps des insectes sous la forme de spores microscopiques. Dans des conditions favorables de température et d'humidité (généralement élevées), ces spores germent, se développent en surface sur le tégument de l'insecte, puis pénètrent dans sa cavité générale. Ensuite, les cellules fongiques prolifèrent. L'insecte finit par mourir, parfois avec l'intervention de toxines fongiques, et de nouvelles spores se forment.

Les principaux champignons parasitant les anophèles ont été présentés précédemment (voir supra Microbiote et parasites).

Le lâcher de mâles stériles

Le lâcher de mâles stériles (visant la suppression d'une population) est une stratégie autocide de la lutte biologique et constitue un cas particulier de la technique de l'insecte stérile (TIS). La diffusion de la stérilité dans la population, et donc l'efficacité de la méthode, augmente au fur et à mesure du déclin de la population cible ; il en résulte que la place de cette lutte est plutôt en seconde ligne d'intervention, après que l'on a réduit d'une façon ou d'une autre la taille de la population cible.

Les lâchers de mâles stériles ont été testés à Pala, village proche de Bobo-Dioulasso au Burkina Faso, contre les populations d'*An. gambiae*. Les mâles stériles ont été produits en masse à l'insectarium par croisements entre femelles d'*An. melas* et mâles d'*An. arabiensis*, qui ont en outre la propriété de donner presque exclusivement des mâles, facilitant ainsi le tri des sexes chez les hybrides. Les lâchers ont été quotidiens, au cours du quatrième trimestre 1968 (au total, lâcher de 295 813 nymphes), si bien que dans le village la proportion moyenne des mâles stériles par rapport aux mâles normaux

a été de 70 %. Les femelles gorgées capturées dans le village ont été mises à pondre et la fécondité des œufs a été observée. Pendant l'expérimentation, toutes les femelles sauvages d'*An. gambiae* ont pondu des œufs fertiles. Cet échec a été imputé à une fitness réduite des mâles stériles par rapport aux mâles sauvages pour l'insémination des femelles (DAVIDSON *et al.*, 1970). Cet essai de lutte est l'un des tout premiers utilisant la technique des insectes stériles (TIS) qui a été depuis abondamment mise en œuvre sur des insectes d'intérêt agricole ou médical (DYCK *et al.*, 2005).

Il est également possible d'obtenir la stérilisation des mâles en soumettant les nymphes à des radiations ionisantes (rayons X ou γ) qui provoquent des lésions chromosomiques des spermatozoïdes et qui entraînent un défaut d'appariement des chromosomes à la fécondation de l'œuf, et par conséquent l'arrêt plus ou moins précoce de l'embryogenèse. Un tel programme pilote est en cours contre *An. arabiensis* sous l'égide de l'IAEA (*International Atomic Energy Agency*) dans le nord du Soudan.

Le lâcher de moustiques mâles stériles et le lâcher de moustiques dont le génome a été modifié (et qui sont donc des OGM, voir « lutte génétique » ci-dessous) sont deux approches autocides (suppression des populations) non exclusives l'une de l'autre ; elles peuvent être combinées lorsque le gène modifié entraîne une stérilité.

Lutte génétique

La lutte génétique désigne un ensemble de méthodes qui touchent les gènes d'une population, dans leur composition ou leur expression, dans le but de réduire son potentiel reproducteur. En pratique, le procédé consiste à modifier des gènes ou à en introduire de nouveaux dans les populations de moustiques pour les rendre stériles, réfractaires au *Plasmodium*, incapables de voler, strictement zoophiles, etc. Cette lutte est très spécifique car elle est parfaitement neutre pour la faune non cible (MCGRAW et O'NEILL, 2013).

La technologie des anophèles OGM n'a pas encore été testée sur le terrain. Elle relève de la transgénèse, visant la stérilité ou visant une modification de comportement (par exemple pour transformer une anthropophilie en zoophilie). Elle relève également de la paratransgénèse (en modifiant les organismes associés présents dans l'insecte) : les symbiontes des anophèles, en particulier les *Wolbachia*, pourraient être génétiquement modifiés afin de synthétiser des molécules antimalariques efficaces sur les stades du développement extrinsèque (BIAN *et al.*, 2013).

Des essais ont été réalisés à l'Imperial College de Londres sur une enzyme baptisée I-Ppol qui découpe l'ADN du chromosome X durant la production des spermatozoïdes, rendant ceux-ci pour la plupart non fonctionnels. Une souche d'*An. gambiae* ainsi modifiée produit 95 % de mâles. Des essais en cage ont montré que la population de moustiques a été anéantie en l'espace de six générations seulement, faute de femelles pour perpétuer la lignée (GALIZI *et al.*, 2014).

D'autres essais ont été menés sur *An. stephensi*, pour le rendre résistant au *Plasmodium* (LUCKHART *et al.*, 2013). Un gène codant pour une kinase du nom d'Akt, impliquée dans divers mécanismes cellulaires, dont la voie de l'immunité innée des moustiques, a vu son expression amplifiée. Les moustiques hétérozygotes (avec une version normale du gène Akt et une version modifiée) s'infectent moins avec les *Plasmodium* que les moustiques sauvages (11 % contre 59 %) et, pour ceux qui sont infectés, l'infection est quantitativement moindre (réduction de 96 %). Lorsque le même test est effectué sur les moustiques homozygotes pour le gène modifié, plus aucun *Plasmodium* n'y est retrouvé.

La lutte par vaccination

Beaucoup d'efforts ont été dépensés pour le développement d'un vaccin contre le paludisme, et de nombreux candidats vaccins ont été testés. Cependant, il n'existe pas aujourd'hui de vaccin antipaludique disponible sur le marché.

SPf66 fut un candidat vaccin composé par un peptide synthétique à base d'antigène de stades sanguins lié à un antigène de stade sporozoïtique. Il a été testé dans de nombreuses zones endémiques dans les années 1990, mais les observations cliniques n'ont pas apporté la preuve d'une protection, et ce candidat vaccin a été abandonné.

C'est actuellement la sous-unité RTS,S, (aussi connu sous l'appellation Mosquirix™), ciblant la protéine circumsporozoïtique de *P. falciparum*, qui est le candidat le plus avancé. Les résultats d'une grande étude multicentrique chez les nouveau-nés (6-12 semaines) recevant 3 injections ont montré au cours des 12 mois suivants la dernière dose une bonne innocuité mais une efficacité modérée, avec 30 % de protection contre les accès simples et 26 % de protection contre les accès graves. Des résultats antérieurs sur des enfants plus âgés (5-17 mois) ont été meilleurs, avec 55 % de protection contre les accès simples et 35 % contre les accès graves, au cours des 14 mois après la dernière dose. Ce candidat vaccin pourrait donc apporter un complément de protection mais, si l'on prend acte de son efficacité relativement faible, il ne saurait se substituer aux mesures existantes, préventives, diagnostiques et thérapeutiques.

Selon l'OMS, plus de 20 candidats vaccins utilisant différentes sous-unités sont actuellement en cours d'évaluation dans des essais cliniques ou en phase de développement préclinique avancé. Ces projets incluent des vaccins bloquant la transmission, visant l'arrêt du développement du parasite dans le moustique vecteur, ne protégeant donc pas directement la personne vaccinée.

D'autres vaccins, dits anti-moustiques, relèvent d'un autre principe. La cible vaccinale est le moustique lui-même, par exemple ses protéines de l'estomac ou des glandes salivaires. De nombreuses tentatives ont été réalisées en vaccinant des modèles expérimentaux souris ou lapins, avec des succès ordinairement partiels sur la mortalité des anophèles, sur la réduction de leur fécondité et sur une moindre infection par

Plasmodium. Ces essais n'ont pas dépassé jusqu'à présent le stade expérimental.

Évaluation de la lutte

L'évaluation fait partie intégrante des programmes de lutte contre le paludisme, que ce soit des programmes conduits à large échelle, visant par exemple l'élimination, ou des programmes pilotes, visant par exemple à tester un procédé expérimental de lutte antivectorielle comme la combinaison de bâches imprégnées de carbamates avec des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (CORBEL *et al.*, 2012).

Les évaluations ne peuvent pas être menées selon un protocole standard : chacune doit être adaptée aux objectifs et au contexte. En revanche, les indicateurs retenus sont souvent les mêmes : un programme de lutte antipaludique mettant en jeu un volet de lutte antivectorielle retiendra souvent une évaluation entomologique (impact sur la densité des vecteurs, sur leur longévité et leur infectivité ; impact sur le contact Homme-vecteur ; impact sur la transmission) et, le cas échéant, visera une évaluation parasitologique (prévalence du portage des *Plasmodium* dans la classe d'âge des enfants scolarisés ; mesure des densités parasitaires, présence de gamétocytes), une évaluation clinique (nombre de cas de paludisme simple et compliqué), une évaluation immunologique (détection d'anticorps spécifiques anti-parasite dans la population exposée), une évaluation socio-économique (absentéisme scolaire, nombre de journées de travail perdues, manque à gagner pour le PIB), voire une évaluation de la mortalité (mortalité attribuée au paludisme, mortalité générale).

Le Programme mondial de lutte antipaludique, chargé de coordonner les activités au niveau mondial, définit des normes, des critères, des politiques et des lignes directrices visant à apporter une solution intégrée aux problèmes épidémiologiques et opérationnels constatés. L'évaluation des progrès réalisés dans ce Programme représente un enjeu considérable ; elle est réalisée, autant que possible, de façon indépendante.

Une nouvelle voie pour évaluer l'intimité du contact entre l'Homme et le moustique, encore en phase expérimentale, est prometteuse : elle utilise le caractère naturellement immunogène de la salive de moustique injectée lors de chaque piqûre et la réponse immunologique de l'Homme. En effet, l'exposition aux piqûres et la réponse anticorps contre la salive sont proportionnelles. Cela a été vérifié contre de la salive totale, et contre le peptide synthétique gSG6-P1 spécifique de la salive d'anophèle (DRAME *et al.*, 2012 ; 2013). La mise au point d'un test d'évaluation de l'exposition est envisagée sous forme de bandelette, utilisant une goutte de sang ; ce test pourrait apporter d'utiles informations épidémiologiques, et dans le meilleur des cas des informations diagnostiques.

En amont de l'évaluation de la lutte, un autre type d'évaluation concerne les aspects d'innocuité. Cet aspect ne vise pas l'efficacité mais à constater l'absence de toxicité ou, plus précisément, à évaluer si le risque toxicologique est acceptable. Ce type d'évaluation concerne tout ce qui est nouveau et qui n'a pas été testé précédemment ; par exemple, une nouvelle matière active insecticide, une nouvelle formulation de répulsif, un nouveau médicament, une nouvelle prescription pour un médicament ancien, un nouveau candidat vaccin, etc. Dans ce domaine, l'OMS réactualise périodiquement une liste de produits biocides approuvés pour la lutte antivectorielle et la santé publique, notamment pour l'imprégnation de moustiquaires à longue durée d'action.

RÉFÉRENCES

Alout, H., Yameogo, B., Djogbénou, L.S., Chandre, F., Dabiré, R.K., Corbel, V., Cohuet, A., 2014. Interplay between *Plasmodium* infection and resistance to insecticides in vector mosquitoes. *J. Infect. Dis.*, 210 (9) : 1464-1470.

Antonio-Nkondjio, C., Fossog, B.T., Ndo, C., Djantio, B.M., Togouet, S.Z., Awono-Ambene, P., Costantini, C., Wondji, C.S., Ranson, H., 2011. *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malar. J.*, 10 : 154.

Ariey, F., Witkowski, B., Amaratunga, C., Beghain, J., Langlois, A.C., Khim, N., Kim, S., Duru, V., Bouchier, C., Ma, L., Lim, P., Leang, R., Duong, S., Sreng, S., Suon, S., Chhor, C.M., Bout, D.M., Ménard, S., Rogers, W.O., Genton, B., Fandeur, T., Miotto, O., Ringwald, P., Le Bras, J., Berry, A., Barale, J.C., Fairhurst, R.M., Benoit-Vical, F., Mercereau-Puijalon, O., Ménard, D., 2014. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*, 505 (7481) : 50-55.

Assogba, B.S., Djogbénou, L., Saizonou, J., Diabaté, A., Dabiré, R.K., Moiroux, N., Gilles, J.R., Makoutodé, M., Baldet, T., 2014. Characterization of swarming and mating behaviour between *Anopheles coluzzii* and *Anopheles melas* in a sympatry area of Benin. *Acta Trop.*, 132 Suppl : S53-S63.

Awono-Ambene, H.P., Robert, V., 1999. Survival and emergence of immature *Anopheles arabiensis* mosquitoes in market-gardener wells in Dakar, Senegal. *Parasite*, 6 (2) : 179-184.

Ayala, D., Costantini, C., Ose, K., Kamdem, G.C., Antonio-Nkondjio, C., Agbor, J.P., Awono-Ambene, P., Fontenille, D., Simard, F., 2009. Habitat suitability and ecological niche profile of major malaria vectors in Cameroon. *Malar. J.*, 8 : 307.

Ayala, D., Ullastres, A., González, J., 2014. Adaptation through chromosomal inversions in *Anopheles*. *Front. Genet.*, 5 : 129.

Baldini, F., Segata, N., Pompon, J., Marcenac, P., Robert Shaw, W., Dabiré, R.K., Diabaté, A., Levashina, E.A., Catteruccia, F., 2014. Evidence of natural *Wolbachia* infections in field populations of *Anopheles gambiae*. *Nat. Commun.*, 5 : 3985.

Bian, G., Joshi, D., Dong, Y., Lu, P., Zhou, G., Pan, X., Xu, Y., Dimopoulos, G., Xi, Z., 2013. *Wolbachia* invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to *Plasmodium* infection. *Science*, 340 (6133) : 748-751.

Bhatt, S., Weiss, D.J., Cameron, E., Bisanzio, D., Mappin, B., Dalrymple, U., Battle, K.E., Moyes, C.L., Henry, A., Eckhoff, P.A., Wenger, E.A., Briët, O., Penny, M.A., Smith, T.A., Bennett, A., Yukich, J., Eisele, T.P., Griffin, J.T., Fergus, C.A., Lynch, M., Lindgren, F., Cohen, J.M., Murray, C.L., Smith, D.L., Hay, S.I., Cibulskis, R.E., Gething, P.W., 2015. The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature*, 526 (7572): 207-211.

- Boissière, A., Tchioffo, M.T., Bachar, D., Abate, L., Marie, A., Nsango, S.E., Shahbazkia, H.R., Awono-Ambene, P.H., Levashina, E.A., Christen, R., Morlais, I., 2012. Midgut microbiota of the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae* and interactions with *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS Pathog*, 8 (5) : e1002742.
- Bousema, T., Dinglasan, R.R., Morlais, I., Gouagna, L.C., van Warmerdam, T., Awono-Ambene, P.H., Bonnet, S., Diallo, M., Coulibaly, M., Tchuinkam, T., Mulder, B., Targett, G., Drakeley, C., Sutherland, C., Robert, V., Doumbo, O., Touré, Y., Graves, P., Roeffen, W., Sauerwein, R., Birkett, A., Locke, E., Morin, M., Wu, Y., Churcher, T.S., 2012. Mosquito feeding assays to determine the infectiousness of naturally infected *Plasmodium falciparum* gametocyte carriers. *PLoS One*, 7 (8) : e42821.
- Bregues, J., Coz, J., 1973. Quelques aspects fondamentaux de la biologie d'*Anopheles gambiae* Giles (Sp. A) et d'*Anopheles funestus* Giles, en zone de savane humide d'Afrique de l'Ouest. *Cah. Orstom, sér. Ent. Méd. Parasitol.*, 11 (2) : 107-126.
- Carnevale, P., Trari, B., Izri, A., Manguin, S., 2012. Les cinq piliers de la protection familiale et personnelle de l'homme contre les moustiques vecteurs d'agents pathogènes. *Méd. Santé Trop.*, 22 (1) : 13-21.
- Carnevale, P., Robert, V., Manguin, M., Corbel, V., Fontenille, D., Garros, C., Rogier, C., 2009. *Les anophèles. Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle* Collection Didactiques, IRD Éditions, 391 p.
- Choumet, V., Attout, T., Chartier, L., Khun, H., Sautereau, J., Robbe-Vincent, A., Brey, P., Huerre, M., Bain, O., 2012. Visualizing non infectious and infectious *Anopheles gambiae* blood feedings in naive and saliva-immunized mice. *PLoS One*, 7 (12) : e50464.
- Christophers, S.R., 1911. The development of the egg follicle in Anophelines. *Paludism*, 2 : 73-88.
- Churcher, T.S., Bousema, T., Walker, M., Drakeley, C., Schneider, P., Ouédraogo, A.L., Basáñez, M.G., 2013. Predicting mosquito infection from *Plasmodium falciparum* gametocyte density and estimating the reservoir of infection. *eLife* 2013;2 : e00626
- Clements, A.N., 1999. *The biology of mosquitoes. Vol 2. Sensory reception and behavior*. Wallingford, CABI Publishing, 740 p.
- Coetzee, M., Koekemoer, L.L., 2013. Molecular systematics and insecticide resistance in the major African malaria vector *Anopheles funestus*. *Annu. Rev. Entomol.*, 58 : 393-412.
- Cohuet, A., Harris, C., Robert, V., Fontenille, D., 2010. Evolutionary forces on *Anopheles*: what makes a malaria vector? *Trends Parasitol.*, 26 (3) : 130-136.
- Collins, F.H., Paskewitz, S.M., 1996. A review of the use of ribosomal DNA (rDNA) to differentiate among cryptic *Anopheles* species. *Insect Mol. Biol.*, 5 (1) : 1-9.
- Coluzzi, M., Sabatini, A., Petrarca, V., Di Deco, M.A., 1979. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 73 (5) : 483-497.
- Coluzzi, M., Petrarca, V., Di Deco, M.A., 1985. Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in *Anopheles gambiae*. *Boll. Zool.*, 52 : 45-63.
- Corbel, V., Akogbeto, M., Damien, G.B., Djenontin, A., Chandre, F., Rogier, C., Moiroux, N., Chabi, J., Banganna, B., Padonou, G.G., Henry, M.C., 2012. Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomised controlled trial. *Lancet Infect. Dis.*, 12 (8) : 617-626.
- Costantini, C., Sagnon, N., Ilboudo-Sanogo, E., Coluzzi, M., Boccolini, D., 1999. Chromosomal and bionomic heterogeneities suggest incipient speciation in *Anopheles funestus* from Burkina Faso. *Parasitologia*, 41 (4) : 595-611.
- Costantini, C., Ayala, D., Guelbeogo, W.M., Pombi, M., Some, C.Y., Bassole, I.H., Ose, K., Fotsing, J.M., Sagnon, N., Fontenille, D., Besansky, N.J., Simard, F., 2009. Living at the edge: biogeographic patterns of habitat segregation conform to speciation by niche expansion in *Anopheles gambiae*. *BMC Ecol.*, 9 : 16.
- Dabiré, K.R., Sawadogo, S., Diabaté, A., Toe, K.H., Kengne, P., Ouari, A., Costantini, C., Gouagna, C., Simard, F., Baldet, T., Lehmann, T., Gibson, G. 2013. Assortative mating in mixed swarms of the mosquito *Anopheles gambiae* s.s. M and S molecular forms, in Burkina Faso, West Africa. *Med. Vet. Entomol.*, 27 (3) : 298-312.
- Dahan, Y.L., Koekemoer, L.L., 2014. Analysis of the genitalia rotation in the male *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae). *Acta Trop.*, 132, Supplement, S20-S25.
- Dao, A., Yaro, A.S., Diallo, M., Timbiné, S., Huestis, D.L., Kassogué, Y., Traoré, A.I., Sanogo, Z.L., Samaké, D., Lehmann, T., 2014. Signatures of aeviation and migration in Sahelian malaria mosquito populations. *Nature*, 18;516(7531) : 387-390.

- Davidson, G., Odetoynbo, J.A., Colussa, B., Coz J., 1970. A field attempt to assess the mating competitiveness of sterile males produced by crossing two member species of the *Anopheles gambiae* complex. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 42 : 55-67.
- Detinova, T.S., 1962. Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. *Wld. Hlth. Org. Monogr. Series* : 47, 216 p.
- Donnelly, M.J., Simard, F., Lehmann, T., 2002. Evolutionary studies of malaria vectors. *Trends Parasitol*, 18 (2) : 75-80.
- Dottorini, T., Nicolaides, L., Ranson, H., Rogers, D.W., Crisanti, A., Catteruccia, F., 2007. A genome-wide analysis in *Anopheles gambiae* mosquitoes reveals 46 male accessory gland genes, possible modulators of female behavior. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 104 (41) : 16215-16220.
- Drame, P.M., Machault, V., Diallo, A., Cornélie, S., Poinson, A., Lalou, R., Sembène, M., Dos Santos, S., Rogier, C., Pagès, F., Le Hesran, J.Y., Remoué, F., 2012. IgG responses to the gSG6-P1 salivary peptide for evaluating human exposure to *Anopheles* bites in urban areas of Dakar region, Senegal. *Malar. J.*, 11 : 72.
- Drame, P.M., Diallo, A., Poinson, A., Boussari O., Dos Santos, S., Machault, V., Lalou, R., Cornélie, S., Le Hesran, J.Y., Remoué, F., 2013. Evaluation of the effectiveness of malaria vector control measures in urban settings of Dakar by a specific anopheles specific biomarker. *PLoS One*, 8 (6) : e66354.
- Duval, L., Fourment, M., Nerrienet, E., Rousset, D., Sadeuh, S.A., Goodman, S.M., Andriaholinirina, N.V., Randrianarivelojosia, M., Paul, R.E., Robert, V., Ayala, F.J., Arney, F., 2010. African apes as reservoirs of *Plasmodium falciparum* and the origin and diversification of the *Laverania* subgenus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 107 (23) : 10561-10566.
- Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S. (Eds.), 2005. *Sterile Insect Technique, principles and practice in area-wide integrated pest management*. New York, Springer, 801 p.
- Faulde, M.K., Rueda, L.M., Khaireh, B.A., 2014. First record of the Asian malaria vector *Anopheles stephensi* and its possible role in the resurgence of malaria in Djibouti, Horn of Africa. *Acta Trop.*, 139 : 39-43.
- Favia, G., Ricci, I., Damiani, C., Raddadi, N., Crotti, E., Marzorati, M., Rizzi, A., Urso, R., Brusetti, L., Borin, S., Mora, D., Scuppa, P., Pasqualini, L., Clementi, E., Genchi, M., Corona, S., Negri, I., Grandi, G., Alma, A., Kramer, L., Esposito, F., Bandi, C., Sacchi, L., Daffonchio, D., 2007. Bacteria of the genus *Asaia* stably associate with *Anopheles stephensi*, an Asian malarial mosquito vector. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104 (21) : 9047-9051.
- Fontaine, A., Diouf, I., Bakkali, N., Missé, D., Pagès, F., Fusai, T., Rogier, C., Almeras, L., 2011. Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions. *Parasit. Vectors*, 4 : 187.
- Fontaine, M.C., Pease, J.B., Steele, A., Waterhouse, R.M., Neafsey, D.E., Sharakhov, I.V., Jiang, X., Hall, A.B., Catteruccia, F., Kakani, E., Mitchell, S.N., Wu, Y.C., Smith, H.A., Love, R.R., Lawniczak, M.K., Slotman, M.A., Emrich, S.J., Hahn, M.W., Besansky, N.J., 2015. Mosquito genomics. Extensive introgression in a malaria vector species complex revealed by phylogenomics. *Science*, 347 (6217) : 1258524.
- Galizi, R., Doyle, L.A., Menichelli, M., Bernardini, F., Deredec, A., Burt, A., Stoddard, B.L., Windbichler, N., Crisanti, A., 2014. A synthetic sex ratio distortion system for the control of the human malaria mosquito. *Nat. Commun.*, 5 : 3977.
- Gatton, M.L., Chitnis, N., Churcher, T., Donnelly, M.J., Ghani, A.C., Godfray, H.C., Gould, F., Hastings, I., Marshall, J., Ranson, H., Rowland, M., Shaman, J., Lindsay, S.W., 2013. The importance of mosquito behavioural adaptations to malaria control in Africa. *Evolution*, 67 (4) : 1218-1230.
- Gillies, M.T., Coetzee, M., 1987. A supplement to the Anophelinae of Africa, South of the Sahara (Afrotropical region). *Publications of the South African Institute for Medical Research n°53*, Johannesburg, South Africa, 143 p.
- Gouagna, L.C., Kerampran, R., Kerampran, R., Lebon, C., Brengues, C., Toty, C., Wilkinson, D.A., Boyer, S., Fontenille, D., 2014. Sugar-source preference, sugar intake and relative nutritional benefits in *Anopheles arabiensis* males. *Acta Trop.*, 132 Suppl : S70-S79.
- Hackett, L.W., 1937. *Malaria in Europe*. London, Oxford University Press.
- Harbach, R.E., 2004. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Entomol. Res.*, 94 : 537-553.
- Harbach R.E., 2013. The Phylogeny and Classification of *Anopheles*. In Manguin S. (Ed.): *Anopheles mosquitoes - New insights into malaria vectors*, InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/54695>

- Harbach, R.E., 2016. *Mosquito Taxonomic Inventory*. Available <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>. Accessed 06 January 2016.
- Harbach, R.E., Kitching, A.J., 2005. Reconsideration of anopheline phylogeny (Diptera: Culicidae: Anophelinae) based on morphological data. *Systematics and Biodiversity*, 3 (4) : 345-374.
- Hay, S.I., Sinka, M.E., Okara, R.M., Kabaria, C.W., Mbithi, P.M., Tago, C.C., Benz, D., Gething, P.W., Howes, R.E., Patil, A.P., Temperley, W.H., Bangs, M.J., Chareonviriyaphap, T., Elyazar, I.R., Harbach, R.E., Hemingway, J., Manguin, S., Mbogo, C.M., Rubio-Palis, Y., Godfray, H.C., 2010. Developing global maps of the dominant *Anopheles* vectors of human malaria. *PLoS Medicine*, 7 : e1000209.
- Hemingway, J., Ranson, H., Magill A., et al., 2016. Averting a malaria disaster: will insecticide resistance derail malaria control? *Lancet*, 387 : 1785-1788.
- Holt, R.A., Subramanian, G.M., Halpern, A., et al., 2002. The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Science*, 298 (5591) : 129-149.
- Huho, B.J., Ng'habi, K.R., Killeen, G.F., Nkwengulila, G., Knols, B.G.J., Ferguson, H.M., 2006. A reliable morphological method to assess the age of male *Anopheles gambiae*. *Malar. J.*, 5 : 62.
- Kabiru, E.W., Mbogo, C.M., Muiruri, S.K., Ouma, J.H., Githure, J.I., Beier, J.C., 1997. Sporozoites loads of naturally infected *Anopheles* in Kilifi District, Kenya. *J. Am. Mosq. Contr. Assoc.*, 13 : 259-262.
- Kafsack, B.F., Rovira-Graells, N., Clark, T.G., Bancells, C., Crowley, V.M., Campino, S.G., Williams, A.E., Drought, L.G., Kwiatkowski, D.P., Baker, D.A., Cortés, A., Llinás, M., 2014. A transcriptional switch underlies commitment to sexual development in malaria parasites. *Nature*, 507 (7491) : 248-252.
- Kelly, M., Su, C.Y., Schaber, C., Crowley, J.R., Hsu, F.F., Carlson, J.R., Odom, A.R., 2015. Malaria parasites produce volatile mosquito attractants. *MBio*, 24;6(2) pii : e00235-15.
- Kilama, M., Smith, D.L., Hutchinson, R., Kigozi, R., Yeka, A., Lavoy, G., Kanya, M.R., Staedke, S.G., Donnelly, M.J., Drakeley, C., Greenhouse, B., Dorsey, G., Lindsay, S.W., 2014. Estimating the annual entomological inoculation rate for *Plasmodium falciparum* transmitted by *Anopheles gambiae* s.l. using three sampling methods in three sites in Uganda. *Malar. J.*, 13 : 111.
- Killeen, G.F., Fillinger, U., Kiche, I., Gouagna, L.C., Knols, B.G., 2002. Eradication of *Anopheles gambiae* from Brazil: lessons for malaria control in Africa? *Lancet Infect. Dis.*, 2 : 618-627.
- Kreutzer, R.D., 1978. A mosquito with eight chromosomes: *Chagasia bathana* Dyar. *Mosq. News*, 38 (4) : 554-558.
- Krzywinski, J., Besansky, N.J., 2003. Molecular systematics of *Anopheles*: from subgenera to subpopulations. *Annu. Rev. Entomol.*, 48 : 111-139.
- Lambrechts, L., Cohuet, A., Robert, V., 2011. Malaria vectors. In : *Encyclopedia of Biological Invasions*. Simberloff D. & Rejmanek M. Eds. Berkeley, University of California Press : 442-445.
- Lehmann, T., Licht, M., Gimnig, J.E., Hightower, A., Vulule, J.M., Hawley, W.A., 2003. Spatial and temporal variation in kinship among *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 40 (4) : 421-429.
- Lehmann, T., Dao, A., Yaro, A.S., Adamou, A., Kassogue, Y., Diallo, M., Sékou, T., Coscaron-Arias, C., 2010. Aestivation of the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae* in the Sahel. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 83 (3) : 601-606.
- Lehmann, T., Dao, A., Yaro, A.S., Diallo, M., Timbiné, S., Huestis, D.L., Adamou, A., Kassogue, Y., Traoré, AI, 2014. Seasonal variation in spatial distributions of *Anopheles gambiae* in a Sahelian village: evidence for aestivation. *J. Med. Entomol.*, 51 (1) : 27-38.
- Lefèvre, T., Vantaux, A., Dabiré, K.R., Mouline, K., Cohuet, A., 2013. Non-genetic determinants of mosquito competence for malaria parasites. *PLoS Pathog.*, 9 (6) : e1003365.
- Levine ND, 1988. *The protozoan phylum Apicomplexa*. Part 2, Florida, CRC Press.
- Liu, W., Li Y., Learn, G.H., Rudicell, R.S., Robertson, J.D., Keele, B.F., Ndjanga, J.B., Sanz, C.M., Morgan, D.B., Locatelli, S., Gonder, M.K., Kranzusch, P.J., Walsh, P.D., Delaporte, E., Mpoudi-Ngole, E., Georgiev, A.V., Muller, M.N., Shaw, G.M., Peeters, M., Sharp, P.M., Rayner, J.C., Hahn, B.H., 2010. Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. *Nature*, 467 (7314) : 420-425.
- Liu, J., Modrek, S., Gosling, R.D., Feachem, R.G.A., 2013. Malaria eradication: is it possible? Is it worth it? Should we do it? *Lancet Global Health*, 1 : 1.
- Luckhart, S., Giulivi, C., Drexler, A.L., Antonova-Koch, Y., Sakaguchi, D., Napoli, E., Wong, S., Price, M.S., Eigenheer, R., Phinney, B.S., Pakpour, N., Pietri, J.E.,

- Cheung, K., Georgis, M., Riehl, M., 2013. Sustained activation of Akt elicits mitochondrial dysfunction to block *Plasmodium falciparum* infection in the mosquito host. *PLoS Pathog.*, 9 (2) : e1003180.
- Macdonald, G., 1957. *The epidemiology and control of malaria*. London, New York : Oxford University Press, 201 p
- McGraw, E.A., O'Neill, S.L., 2013. Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem. *Nat. Rev. Microbiol.*, 11 (3) : 181-193.
- Mer, G.G., 1936. Experimental study on the development of the ovary in *Anopheles elutus*, Edw. (Dipt. Culic.). *Bull. Ent. Res.*, 27 : 351-359.
- Michel, A.P., Ingrassi, M.J., Schemerhorn, B.J., Kern, M., Le Goff, G., Coetzee, M., Elissa, N., Fontenille, D., Vulule, J., Lehmann, T., Sagnon, N., Costantini, C., Besansky, N.J., 2005. Rangewide population genetic structure of the African malaria vector *Anopheles funestus*. *Mol. Ecol.*, 14 (14) : 4235-4248.
- Mitri, C., Jacques, J.C., Thiery, I., Riehle, M.M., Xu, J., Bischoff, E., Morlais, I., Nsango, S.E., Vernick, K.D., Bourgouin, C., 2009. Fine pathogen discrimination within the APL1 gene family protects *Anopheles gambiae* against human and rodent malaria species. *PLoS Pathog.*, 5 (9) : e1000576.
- Molina-Cruz, A., Lehmann, T., Knockel, J., 2013. Could culicine mosquitoes transmit human malaria? *Trends Parasitol.*, 29 (11) : 530-537.
- Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D., Sircoulon J., 2004. *Biodiversité du paludisme dans le monde*. Montrouge, John Libbey Eurotext.
- Müller, P., Pflüger, V., Wittwer, M., Ziegler, D., Chandre, F., Simard, F., Lengeler, C., 2013. Identification of cryptic *Anopheles* mosquito species by molecular protein profiling. *PLoS One*, 8 (2) : e57486.
- Murdock, C.C., Paaijmans, K.P., Bell, A.S., King, J.G., Hillyer, J.F., Read, A.F., Thomas M.B., 2012. Complex effects of temperature on mosquito immune function. *Proc. Biol. Sci.*, 279 (1741) : 3357-3366.
- Ndo, C., Simard, F., Kengne, P., Awono-Ambene, P., Morlais, I., Sharakhov, I., Fontenille, D., Antonio-Nkondjio, C., 2013. Cryptic genetic diversity within the *Anopheles nili* group of malaria vectors in the equatorial forest area of Cameroon (Central Africa). *PLoS One*, 8 (3):e58862.
- Neafsey, D.E., Waterhouse, R.M., Abai, M.R., et al., 2015. Mosquito genomics. Highly evolvable malaria vectors: the genomes of 16 *Anopheles* mosquitoes. *Science*, 347 (6217) : 1258522.
- Nyasembe, V.O., Teal, P.E., Sawa, P., Tumlinson, J.H., Borgemeister, C., Torto, B., 2014. *Plasmodium falciparum* infection increases *Anopheles gambiae* attraction to nectar sources and sugar uptake. *Curr Biol.*, 24 (2) : 217-221.
- Paaijmans, K.P., Blanford, S., Bell, A.S., Blanford, J.I., Read, A.F., Thomas, M.B., 2010. Influence of climate on malaria transmission depends on daily temperature variation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 107 (34) :15135-15139.
- Parmakelis, A., Russello, M.A., Caccone, A., Marcondes, C.B., Costa, J., Forattini, O.P., Sallum, M.A., Wilkerson, R.C., Powell, J.R., 2008. Historical analysis of a near disaster: *Anopheles gambiae* in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78 : 176-178.
- Paupy, C., Makanga, B., Ollomo, B., Rahola, N., Durand, P., Magnus, J., Willaume, E., Renaud, F., Fontenille, D., Prugnolle, F., 2013. *Anopheles moucheti* and *Anopheles vinckei* are candidate vectors of Ape *Plasmodium* parasites, including *Plasmodium praefalciparum* in Gabon. *PLoS One*, 8 (2) : e57294.
- Pombi, M., Caputo, B., Simard, F., Di Deco, M.A., Coluzzi, M., della Torre, A., Costantini, C., Besansky, N.J., Petrarca, V., 2008. Chromosomal plasticity and evolutionary potential in the malaria vector *Anopheles gambiae sensu stricto*: insights from three decades of rare paracentric inversions. *BMC Evol. Biol.*, 8 : 309.
- Potter, C.J., 2014. Stop the biting: targeting a mosquito's sense of smell. *Cell*, 156 : 878-881.
- PPAV working groups, 2011. Personal protection against biting insects and ticks. *Parasite*, 18 (1) : 93-111.
- Pringle, G., 1966. A quantitative study of naturally-acquired malaria infections in *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus* in a highly malarious area of East Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60 : 626-632.
- Rahola, N., Makanga, B., Yangari, P., Jiolle, D., Fontenille, D., Renaud, F., Ollomo, B., Ayala, D., Prugnolle, F., Paupy, C., 2014. Description of *Anopheles gabonensis*, a new species potentially involved in rodent malaria transmission in Gabon, Central Africa. *Infect. Genet. Evol.*, 28 : 628-634.
- Ranson, H., N'Guessan, R., Lines, J., Moiroux, N., Nkumi, Z., Corbel, V., 2011. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends Parasitol.*, 27 (2) : 91-98.

- Rebollo, M.P., Bockarie, M.J., 2013. Toward the elimination of lymphatic filariasis by 2020: treatment update and impact assessment for the endgame. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* 11 (7) : 723-731.
- Read, A.F., Mideo, N., 2013. Malaria: The vector as protector. *Nature*, 498 (7453) : 177-178.
- Rider, M.A., Byrd, B.D., Keating, J., Wesson, D.M., Caillouet, K.A., 2012. PCR detection of malaria parasites in desiccated *Anopheles* mosquitoes is uninhibited by storage time and temperature. *Malar. J.*, 11 : 193.
- Riehle, M.M., Markianos, K., Niaré, O., Xu, J., Li, J., Touré, A.M., Podiougou, B., Oduol, F., Diawara, S., Diallo, M., Coulibaly, B., Ouatar, A., Kruglyak, L., Traoré, S.F., Vernick, K.D., 2006. Natural malaria infection in *Anopheles gambiae* is regulated by a single genomic control region. *Science*, 312 (5773) : 577-579.
- Rinker, D.C., Zhou, X., Pitts, R.J., AGC Consortium, Rokas, A., Zwiebel, L.J., 2013. Antennal transcriptome profiles of anopheline mosquitoes reveal human host olfactory specialization in *Anopheles gambiae*. *BMC Genomics*, 14 : 749.
- Rivero, A., Vézilier, J., Weill, M., Read, A.F., Gandon, S., 2010. Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? *PLoS Pathog.*, 6 (8) : e1001000.
- Robert, V., Macintyre, K., Keating, J., Trape, J.F., Duchemin, J.B., Warren, M., Beier, J.C., 2003. Malaria transmission in urban sub-saharan Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 68 (2) : 169-176.
- Robert, V., Le Goff, G., Andrianavolambo, L., Randimby, F.M., Domarle, O., Randrianavelosia, M., Raharimanga, V., Raveloson, A., Ravaonjanahary, C., Arie, F., 2006. Moderate transmission but high prevalence of malaria in Madagascar. *Int. J. Parasitol.*, 36 : 1273-1281.
- Robert, V., Rocamora, G., Julienne, S., Goodman, S.M., 2011 a. Why are anopheline mosquitoes not present in the Seychelles? *Malar. J.*, 10 : 31.
- Robert, V., Trape, J.F., Rogier, C., 2011 b. Malaria parasites: elimination is not eradication. *Clin. Microbiol. Infect.*, 17 (11) : 1597-1599.
- Ross, R., 1911. *The prevention of malaria*. 2nd edn, London, Murray.
- Rund, S.S., Lee, S.J., Bush, B.R., Duffield, G.E., 2012. Strain- and sex-specific differences in daily flight activity and the circadian clock of *Anopheles gambiae* mosquitoes. *J. Insect. Physiol.*, 58 (12) : 1609-1619.
- Russell, T.L., Govella, N.J., Azizi, S., Drakeley, C.J., Kachur, S.P., Killeen, G.F., 2011. Increased proportions of outdoor feeding among residual malaria vector populations following increased use of insecticide-treated nets in rural Tanzania. *Malar. J.*, 10 : 80.
- Sawadogo, P.S., Namountougou, M., Toé, K.H., Rouamba, J., Maïga, H., Ouédraogo, K.R., Baldet, T., Gouagna, L.C., Kengne, P., Simard, F., Costantini, C., Gibson, G., Diabaté, A., Lees, R.S., Gilles, J.R., Dabiré, K.R., 2014. Swarming behaviour in natural populations of *Anopheles gambiae* and *An. coluzzii*: review of 4 years survey in rural areas of sympatry, Burkina Faso (West Africa). *Acta Trop.*, 132 Suppl : S42-S52.
- Severo, M.S., Levashina, E.A., 2014. Mosquito defenses against *Plasmodium* parasites. *Current Opinion Insect Sc.*, 3 : 30-36.
- Sharakhova, M.V., Hammond, M.P., Lobo, N.F., Krzywinski, J., Unger, M.F., Hillenmeyer, M.E., Bruggner, R.V., Birney, E., Collins, F.H., 2007. Update of the *Anopheles gambiae* PEST genome assembly. *Genome Biol.*, 8 (1) : R5.
- Shevtsova, E., Hansson, C., Janzen, D.H., Kjærandsen, J., 2011. Stable structural color patterns displayed on transparent insect wings. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 108 (2) : 668-673.
- Shutt, B., Stables, L., Aboagye-Antwi, F., Moran, J., Tripet, F., 2010. Male accessory gland proteins induce female monogamy in anopheline mosquitoes. *Med. Vet. Entomol.*, 24 (1) : 91-94.
- Sinka, M.E., Bangs, M.J., Manguin, S., Rubio-Palis, Y., Chareonviriyaphap, T., Coetzee, M., Mbogo, C.M., Hemmingway, J., Patil, A.P., Temperley, W.H., Gething, P.W., Kabaria, C.W., Burkot, T.R., Harbach, R.E., Hay, S.I., 2012. A global map of dominant malaria vectors. *Parasit. Vectors*, 5 : 69.
- Siraj, A.S., Santos-Vega, M., Bouma, M.J., Yadeta, D., Ruiz Carrascal, D., Pascual, M., 2014. Altitudinal changes in malaria incidence in highlands of Ethiopia and Colombia. *Science*, 343 (6175) : 1154-1158.
- Smith, D.L., Cohen, J.M., Chiyaka, C., Johnston, G., Gething, P.W., Gosling, R., Buckee, C.O., Laxminarayan, R., Hay, S.I., Tatem, A.J., 2013. A sticky situation: the unexpected stability of malaria elimination. *Phil. Trans. R. Soc. B* 368 : 20120145.
- Soper, F.L., Wilson, D.B., 1943. *Anopheles gambiae* in Brasil, 1930-1940. New York, The Rockefeller Foundation, 262 p.

- Sougoufara, S., Diédhiou, S.M., Doucouré, S., Diagne, N., Sembène, P.M., Harry, M., Trape, J.F., Sokhna, C., Ndiath, M.O., 2014. Biting by *Anopheles funestus* in broad daylight after use of long-lasting insecticidal nets: a new challenge to malaria elimination. *Malar. J.*, 13 : 125.
- Sweeney, A.W., Russell, R.C., 1973. Autogeny in *Anopheles amictus hilli*. *Mosquito news*, 33 (3) : 467-468.
- Takken, W., Verhulst, N.O., 2012. Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annu. Rev. Entomol.*, 58 : 433-453.
- Talman, A.M., Domarle, O., McKenzie, F.E., Ariey, F., Robert, V., 2004. Gametocytogenesis: the puberty of *Plasmodium falciparum*. *Malar. J.*, 3 : 24.
- Tatem, A.J., Hay, S.I., Rogers, D.J., 2006. Global traffic and disease vector dispersal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103 (16) : 6242-6247.
- Tchioffo, M.T., Boissière, A., Churcher, T.S., Abate, L., Gimonneau, G., Nsango, S.E., Awono-Ambéné, P.H., Christen, R., Berry, A., Morlais, I., 2013. Modulation of malaria infection in *Anopheles gambiae* mosquitoes exposed to natural midgut bacteria. *PLoS One*, 8 (12) : e81663.
- Tene Fossog, B., Antonio-Nkondjio, C., Kengne, P., Njiokou, F., Besansky, N.J., Costantini, C., 2013. Physiological correlates of ecological divergence along an urbanization gradient: differential tolerance to ammonia among molecular forms of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *BMC Ecol.*, 13 : 1.
- Trape, J.F., Lefebvre-Zante, E., Legros, F., Ndiaye, G., Bouganali, H., Druilhe, P., Salem G., 1992. Vector density gradients and the epidemiology of urban malaria in Dakar, Senegal. *Am. J. Trop. Med Hyg.*, 47 : 181-189.
- Trape, J.F., Tall, A., Sokhna, C., Ly, A.B., Diagne, N., Ndiath, O., Mazonot, C., Richard, V., Badiane, A., Dieye-Ba, F., Faye, J., Ndiaye, G., Diene Sarr, F., Roucher, C., Bouganali, C., Bassène, H., Touré-Baldé, A., Roussillon, C., Perraut, R., Spiegel, A., Sarthou, J.L., da Silva, L.P., Mercereau-Pujalon, O., Druilhe, P., Rogier, C., 2014. The rise and fall of malaria in a West African rural community, Dielmo, Senegal, from 1990 to 2012: a 22 year longitudinal study. *Lancet Infect. Dis.*, 14 (6) : 476-488.
- Tripet, F., Touré, Y.T., Dolo, G., Lanzaro, G.C., 2003. Frequency of multiple inseminations in field-collected *Anopheles gambiae* females revealed by DNA analysis of transferred sperm. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 68 (1) : 1-5.
- Weiser, J., Zizka, Z., 2004. *Brachiola gambiae* sp. n. the microsporidian parasite of *Anopheles gambiae* and *An. melas* in Liberia. *Acta Protozool.*, 43 : 73-80.
- White, B.J., Collins, F.H., Besansky, N.J., 2011. Evolution of *Anopheles gambiae* in relation to humans and malaria. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 42 : 111-132.
- White, B.J., Kundert, P.N., Turissini, D.A., Van Ekeris, L., Linser, P.J., Besansky, N.J., 2013. Dose and developmental responses of *Anopheles merus* larvae to salinity. *J. Exp. Biol.*, 216 (Pt 18) : 3433-41.
- White, B.J., Lawniczak, M.K., Cheng, C., Coulibaly, M.B., Wilson, M.D., Sagnon, N., Costantini, C., Simard, F., Christophides, G.K., Besansky, N.J., 2011. Adaptive divergence between incipient species of *Anopheles gambiae* increases resistance to *Plasmodium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108 (1) : 244-249.
- White, N.J., 2014. Malaria. *Lancet*, 383 : 723-735.
- Wright, K.A., 1969. The anatomy of salivary glands of *Anopheles stephensi* Liston. *Can. J. Zool.*, 47 : 579-587.
- Xia, Y., Wang, G., Buscariollo, D., Pitts, R.J., Wenger, H., Zwiebel, L.J., 2008. The molecular and cellular basis of olfactory-driven behavior in *Anopheles gambiae* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105 (17) : 6433-6438.
- Yssouf, A., Socolovschi, C., Flaudrops, C., Ndiath, M.O., Sougoufara, S., Dehecq, J.S., Lacour, G., Berenger, J.M., Sokhna, C.S., Raoult, D., Parola, P., 2013. Matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight mass spectrometry : an emerging tool for the rapid identification of mosquito vectors. *PLoS One*, 8 (8) : e72380.

Robert Vincent, Ayala Diego, Simard Frédéric (2017)

Les anophèles (Diptera : Culicidae : Anophelinae)

In : Duvallet G. (ed.), Fontenille Didier (ed.), Robert Vincent (ed.). *Entomologie médicale et vétérinaire*

Marseille (FRA) ; Versailles : IRD ; Quae, p. 181-241

ISBN 978-2-7592-2676-4