UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

****

FACULTE DES SCIENCES

****

DEPARTEMENT D'ENTOMOLOGIE

****

Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies

En Sciences de la vie

Option : ENTOMOLOGIE

SUIVI LONGITUDINAL DES MOUSTIQUES VECTEURS POTENTIELS DU VIRUS WEST NILE A MITSINJO.

Présenté par RAKOTONDRANAIVO Tsiriniaina

Maître es Sciences

Soutenu publiquement le 08 Avril 2015

Membres du Jury :

Président : Mme Ravaomanarivo Raveloson Lala Harivelo, Maître de conférences, HDR, Université d'Antananarivo.

Rapporteurs : M. Razafindrasata Fidimanana, Professeur titulaire, Université d'Antananarivo

M. Tantely Michael Luciano, PhD, Institut Pasteur de Madagascar.

Examinateur : M. Razafindraleva Herisolo Andrianiaina, PhD, Université d'Antanarivo.

Partenaires :

…lève-toi et marche.

Matthieu 9 : 5b

REMERCIEMENTS

Premièrement, je tiens à remercier **DIEU** qui a toujours marché à mes côtés pour que mes projets puissent s'affermir. Je ne suis pas digne d'écrire ton nom mais qu'Il soit glorifié par tous les hommes en voyant toutes les grandes œuvres que Toi seul peut accomplir.

Deuxièmement, beaucoup de personnes ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Aussi, je leur adresse mes sincères remerciements.

Au Professeur **RAZAFINDRASATA Fidimanana**, Responsable de la formation doctorale au sein du département d'Entomologie, d'avoir bien voulu être l'encadreur pédagogique de ce mémoire qui, malgré ses responsabilités, a donné de son temps pour la correction de ce mémoire.

Au Docteur **TANTELY Michael Luciano**, chercheur entomologiste au sein de l'unité d'Entomologie médicale de l'Institut Pasteur de Madagascar, encadreur technique de ce travail, pour l'accueil chaleureux qu'il m'a toujours réservé aussi bien à l'Institut Pasteur qu'à son domicile, pour ses enseignements aussi bien sur le terrain qu' au laboratoire, sa disponibilité à la réalisation de ce mémoire malgré ses multiples responsabilités, sa rigueur scientifique et les précieux conseils qu'il m' a prodigué tout au long de ce travail.

Au Professeur **RAVAOMANARIVO RAVELOSON Lala Harivelo**, directeur de la recherche au sein de l'Université d'Antananarivo, qui malgré ses responsabilités nous a fait le plus grand honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire.

Au Docteur **RAZAFINDRALEVA Andrianiaina Herisolo**, Maître de Conférences au Département d'Entomologie, qui a répondu à notre sollicitation pour siéger en tant que membre de jury. Ses remarques seront reçues et considérées comme constructives pour élargir nos acquis.

Aux enseignants du département d'Entomologie de l'Université d'Antananarivo, au Docteur **RAZAFINDRATIANA Eléonore**, au Docteur **RAZAFINDRANAIVO Victor**, et à Monsieur **RAVELOMANANA Andrianjaka** pour la connaissance et l'expérience que vous m'avez appris et transmis durant ces années d'études.

ET sur une note particulière, je tiens à remercier le Docteur **RANDRIANARISOA Ernest**, Chef du Département d'Entomologie et le Docteur **RAFARASOA Lala Sahondra**, Responsable du parcours Master Gestion Durable des Insectes Utiles et Nuisibles qui ont donné de leurs temps pour la lecture de ce document et qui ont apporté des remarques constructives pour l'améliorer.

A tout le **personnel administratif et aux étudiants du Département d'ENTOMOLOGIE** de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, pour leur disponibilité et l'ambiance conviviale qu'on a vécu durant ces années.

Nous tenons également à remercier

Le professeur **Christophe ROGIER**, directeur de l'Institut Pasteur de Madagascar, d'avoir bien voulu accepter que je fasse mon stage au sein de son établissement.

Le docteur **Sébastien BOYER**, Chef de l'Unité d'Entomologie Médicale de L'Institut Pasteur de Madagascar, de m'avoir donner la chance de me former au recherche scientifique au sein d'une des plus grandes unités de recherche en entomologie médicale de Madagascar mais aussi pour tout ce temps qu'il a passé pour m'encadrer techniquement et scientifiquement.

Toute l'équipe de l'Unité d'Entomologie Médicale de l'Institut Pasteur de Madagascar, pour l'accueil chaleureux que vous m'avez réservé, les conseils pédagogiques et sociaux que vous m'avez procuré.

Le docteur **RAKOTOHARINOME Michel** et toute l'équipe de la Direction des Services Vétérinaires, sans qui cette étude n'aurait probablement pas eue lieu, pour l'ambiance de travail et la convivialité qu'on a partagé durant ces missions de terrain.

Le docteur **Eric CARDINALE** et toute l'équipe du Centre de Recherche et de Veille sur les maladies émergentes de l'Océan Indien (CRVOI) qui a permis de mener à bien cette étude.

A **ma mère et à mon frère** ainsi qu'à tous les amis qui m'ont soutenu pendant ces longues années d'études.

A un certain **RAZANANAIVO Marcel**, tu es parti mais je sens chaque jour de ma vie ta présence et ton amour, repose en paix.

A mademoiselle **RANDRIAMBOAVONJY Tahina Mirasoa**, d'avoir été toujours là, de m'avoir soutenu lors des traversées du désert mais aussi d'avoir partagé les moments de bonheur sur la plage sous le soleil.

A tous ceux que je n'ai pas pu citer dans ces quelques lignes, je vous dis **MERCI**.

Sommaire

I- Introduction 1

II- Matériels et Méthodes 5

1-Site d'étude : District de Mitsinjo (Région Boeny) 5

a- Situation géographique 5

b- Caractéristiques climatiques de la zone d'étude 6

2-Méthodologie 7

a- Période d'étude 7

b- Matériels de piègeages 7

c- Protocole d'échantillonnage 9

3-Analyse des données 11

III- Résultats 13

1- Biodiversité 13

2- Abondance spécifique relative 16

3- Distribution spatiale 18

4- Dynamique des populations de moustiques 21

5- Attraction des moustiques pour les oiseaux domestiques 23

IV- Discussions 24

V- Conclusions et perspectives 30

Liste des figures

Figure 1**:** Structure du virus West Nile : (a,b) virion et genome, (c) genome (Kramer *et al*. 2008) 2

Figure 2: Carte des différents sites d'études dans le district de Mitsinjo (carte en bas et à gauche) : Site 1 : village de Morafeno ; Site 2 : village d'Ankelimitondrotra ; Site 3 : village d'Analalava 5

Figure 3: Table climatique du district de Mitsinjo. (http://fr.climate-data/location/30214) 7

Figure 4: Le piège BG sentinel 9

Figure 5: Piège lumineux et piège BG sentinel posés dans le village. 10

Figure 6: Identification et conservation des moustiques capturés. 11

Figure 7: Courbe cumulée du nombre d'espèces observés autour du lac Kinkony entre Février 2014 et Décembre 2014..... 14

Figure 8: Dendrogramme de similarité entre le village d'Ankelimitondrotra, de Morafeno et d'Analalava dans le district de Mitsinjo..... 15

Figure 9: Description de la distribution des 10 espèces potentiellement vectrices du virus West Nile observées autour du lac Kinkony de Février à Décembre 2014. MRF : Morafeno ; ANK : Ankelimitondrotra, ANL : Analalava..... 15

Figure 10: Description de la distribution des espèces potentiellement vectrices (sans *Ad. madagascarica*) du virus West Nile observées autour du lac Kinkony de Février à Décembre 2014. MRF : Morafeno ; ANK : Ankelimitondrotra, ANL : Analalava..... 20

Figure 11: Densité des moustiques à Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava de Février à Décembre 2014..... 22

Figure 12: Densité moyenne d'*Ad. madagascarica* et des autres espèces de moustiques de Février à Décembre 2014..... 23

Figure 13: Effectifs des moustiques collectés dans les BG sentinel dans l'ensemble des trois villages. 24

Liste des tableaux

Tableau 1: Les moustiques trouvés infectés naturellement par le virus West Nile présents à Madagascar (Source Tantely 2013)..... 4

Tableau 2: Description générale de la diversité culicidienne dans les trois villages..... 15

Tableau 3: Abondance spécifique et biodiversité dans l'ensemble des trois villages. 16

Tableau 4: Analyse statistique de l'influence du facteur village, facteur transect et du facteur mois sur le nombre de moustique capturé autour du lac Kinkony (test Anova à 3 facteurs)..... 17

Tableau 5: Influence du facteur village et du facteur transect sur le nombre d'espèces présentes autour du lac Kinkony (test Anova à deux facteurs). 18

Tableau 6: Analyse statistique de l'effet combiné des facteurs village et mois de capture sur le nombre de moustique présents autour du lac Kinkony..... 21

Liste des équations

Équation 1: Formule de l'indice de JACCARD 12

Équation 2: Formule de l'indice de SHANNON..... 12

Liste des annexes

Annexe 1 : Articles et Communication orale..... 42

Annexe 2 : Description morphologique de l'espèce *Aedeomyia madagascarica*. 43

Annexe 3: carte présentant la végétation de la zone d'étude. 46

I- Introduction

La fièvre West Nile est une zoonose d'origine virale qui affecte les animaux domestiques et sauvages (principalement les oiseaux), l'homme pouvant être touché mais de façon accidentelle (Campbell et al. 2002).

L'homme et les chevaux sont les vertébrés les plus fréquemment touchés par la maladie (Petersen et Roherig 2001). L'infection peut être asymptomatique dans la plupart des cas ou tout au moins se présente sous forme de syndromes grippaux bénins, mais rarement elle provoque des maux de tête sévères et peut aller jusqu'à des troubles neurologiques graves et parfois mortels (Mathiot *et al*. 1983 ; Otlund *et al*. 2001). Chez les oiseaux, réservoirs naturels du virus West Nile, certaines espèces infectées par le virus développent à la fois une virémie suffisante (plus de $10^{6.3}$ PFU/ml) (Sardelis *et al*. 2001) pour infecter les moustiques vecteurs et une immunité permanente vis-à-vis du virus tandis que d'autres espèces d'oiseaux deviennent malades et meurent (Campbell *et al*. 2002).

L'agent pathogène de la Fièvre West Nile est un virus de la famille des Flaviviridae du genre *Flavivirus*. Cette famille comprend deux autres genres, *Pestivirus* et *Hepacivirus* et est caractérisée par sa particule virale constituée par une enveloppe icosaédrique (Zhang *et al*. 2003). Le nom « *flavivirus* » est tiré du latin *flavus* qui signifie jaunisse en relation avec la fièvre jaune (Mukhopadhyay *et al*. 2005). Le genre *Flavivirus* peut être divisé en complexe antigénique selon des critères sérologiques ou sur une base phylogénétique ou tout simplement selon le type de vecteur impliqué principalement dans sa transmission (Mukhopadhyay *et al*. 2005). Le virus West Nile appartient à l'un de ces complexes antigéniques qui est le complexe antigénique de l'encéphalite japonaise qui comprend le virus de l'encéphalite japonaise, le virus West Nile, le virus Kunjin et le virus de l'encéphalite de la Murray valley (Mukhopadhyay *et al*. 2005). Cinq lignées du virus West Nile ont été identifiées dont 2 lignées majeures (lignée I et lignée II) connues pour être pathogènes pour l'homme et les animaux (Pesko et Ebel, 2012). La lignée I est largement distribuée dans le monde tandis que la lignée II est restreinte à la région sub-saharienne et à Madagascar (Lanciotti *et al*. 1999). Le génome viral (figure 1) est constitué d'ARN monocaténaire de polarité positive, d'une longueur moyenne de 11000 nucléotides avec des séquences non codantes d'environ 100 et 600 nucléotides positionnées respectivement aux extrémités 5' et 3' du génome (Campbell *et al*. 2OO2). La particule virale (figure 1) est entourée par une enveloppe de 50 nm de diamètre, de nature lypoglycopeptidique appliquée sur la

nucléocapside de symétrie icosaédrique, à la surface de laquelle apparaissent les dimères de la protéine de l'enveloppe (Martin-Acebes et Saiz 2012).

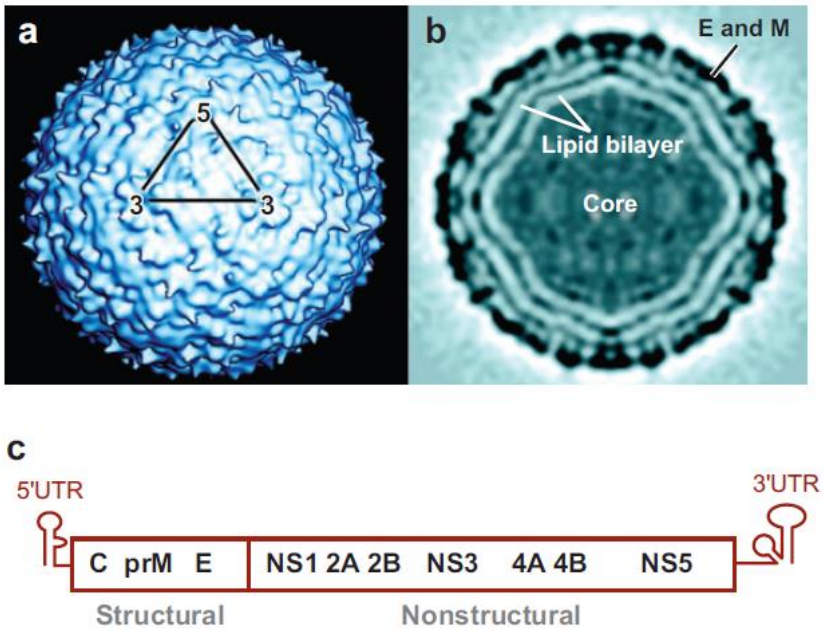


Figure 1: Structure du virus West Nile : (a,b) virion et genome, (c) genome (Kramer *et al*. 2008).

Le virus West Nile a été isolé pour la première fois chez une femme souffrant de somnolence et de fièvre dans le district de West Nile en Ouganda en 1937 (Smithburn *et al*. 1940). La première épidémie de Fièvre West Nile a été signalée en Israël en 1951 et 1952 (Bernkopf *et al*. 1953). Ensuite, la circulation du virus West Nile a été largement signalée dans le monde (Italie, Roumanie, Russie, Grèce, Etats-Unis) (Nash *et al*. 2001, Platonov *et al*. 2001, Calistri *et al*. 2010 ; Sirbu*et al* 2011 ; Papa *et al*. 2011 ; Marvin *et al*. 2012 ; Murray *et al*. 2013).
Malgré d'autres voies d'infections chez l'homme telles que l'infection par transplantation d'organes provenant d'un donneur infecté (Iwamoto *et al*. 2003, Basavaraju *et al*. 2014), par transfusion sanguine (CDC 2002) ou, par transmission intra-utérine (CDC 2002) ; la transmission du virus West Nile entre les hôtes vertébrés s'effectue principalement par la piqûre d'un moustique infecté (Campbell *et al*. 2002). La détermination de l'implication des moustiques dans la transmission du virus West Nile remonte à 1943 avec la description du vecteur *Aedes albopictus* (Philip et Smadel, 1943). Une transmission verticale du virus West Nile chez les vecteurs a été également décrite sur le terrain pour les espèces *Culex univittatus*, *Culex salinarius* et *Aedes triseriatus* (Miller *et al*. 2000, Unlu *et al*. 2010). Cette transmission verticale a également positivement été testée en laboratoire avec les espèces *Aedes aegypti*,

Aedes albopictus, *Culex pipiens*, *Culex quinquefasciatus* et *Culex tritaeniorhyncus* (Baqar *et al*. 1993 ; Goddard *et al*. 2003).

A Madagascar, les premiers anticorps anti-virus West Nile ont été détectés en 1953 (Fontenille 1989) et le virus West Nile a été isolé pour la première fois en mai 1978 à Morondava à partir d'oiseaux sauvages (Clerc et Coulanges, 1979). Le virus a été isolé plus tard, dans les différentes parties de Madagascar, à partir de pools de moustiques (à l'Ouest, au Centre et à l'Est), à partir d'oiseaux (à l'Ouest et au Centre) et à partir de patients atteints de fièvre (au Centre) (Fontenille 1989 ; Maquart *et al*. Soumis). Des anticorps anti-virus West Nile ont été détectés chez l'homme (Fontenille 1989), le bétail et les chauves-souris (à l'Ouest et au Centre) (Coulanges *et al*. 1974 ; Fontenille *et al*. 1989), les lémuriens (à l'Ouest et au Sud) (Fontenille *et al*. 1989). Ces données sérologiques et virologiques montrent que le virus West Nile était présent dans toute l'île (Mathiot *et al*. 1983 ; Morvan *et al*. 1990) et laisse supposer que le virus circulerait de façon permanente dans un cycle oiseau-moustique (Maquart *et al*. soumis) et au sein de la population humaine (Lonchampt *et al*. 2003) sans qu'aucune période épizootique et/ou épidémique n'ait été signalée. Toutefois, le cas humain observé d'un voyageur ayant séjourné à Madagascar en 2011 démontre une circulation à Madagascar (Larrieu *et al*. 2013). A Madagascar, 28 espèces parmi les 117 espèces de moustiques associées au virus West Nile sont présentes (Tantely, 2013 ; Tantely *et al*. Soumis ; Maquart *et al*. Soumis). Ces moustiques représentent 13% (28 espèces/229) des espèces culicidiennes décrites à Madagascar (Tantely, 2013). Onze de ces espèces appartiennent au genre *Culex*, 6 au genre *Aedes*, 3 au genre *Anopheles*, 2 au genre *Mimomyia*, 1 au genre *Coquilettidia*, 1 au genre *Lutzia*, 1 au genre *Mansonia* et 2 au genre *Aedeomyia* (Tableau 1).

Une bonne connaissance sur les vecteurs potentiels associés aux arbovirus est nécessaire pour évaluer les risques de transmission des arboviroses (Tantely, 2013). Cette étude comprend 2 volets : (1) un volet Ornithologique/Virologique confié à la Direction des Services Vétérinaires (M. Rakotoharinome) et à l'Unité de Virologie (J.-M, Heraud) de l'Institut Pasteur de Madagascar qui étudie la circulation du virus West Nile au sein de la population d'oiseaux, et (2) un volet entomologique, pour estimer les potentielles implications de ces espèces dans la transmission du virus West Nile, est confié à l'Unité d'Entomologie Médicale (S. Boyer) de l'Institut Pasteur de Madagascar qui étudie :

- la biodiversité de la faune culicidienne autour du lac Kinkony.
- inventorie les espèces de moustiques déjà associées au virus West Nile.
- la saisonnalité de ces espèces de moustiques.

- l'attractivité des moustiques vecteurs potentiels sur les oiseaux domestiques.

Le district de Mitsinjo a été choisi selon les critères suivants : i) le virus West Nile a été isolé récemment à partir de moustiques et d'animaux domestiques autour du lac Kinkony (district de Mitsinjo) en 2012 (Maquart *et al*. Soumis) ; ii) l'existence de trois écotypes (lac, village et forêt) est idéal pour évaluer la dynamique de transmission du virus West Nile entre les oiseaux sauvages présents aux abords du lac, les oiseaux domestiques et les oiseaux forestiers.

Tableau 1: Les moustiques trouvés infectés naturellement par le virus West Nile à Madagascar (Source Tantely 2013).

Espèces	**Lieu**	**Références**
Aedeomyia furfurea	Madagascar	Fontenille 1989
Aedeomyia madagascarica	Madagascar	Maquart *et al*. soumis
Aedes aegypti	Madagascar	Fontenille 1989
Aedes albocephalus	Madagascar	Fontenille 1989
Aedes albopictus	Etats-Unis d'Amérique	Aubé-Maurice *et al*. 2005
Aedes circumluteolus	Madagascar	Fontenille 1989
Aedes dalzieli	Afrique	Hamon *et al*. 1964
Aedes madagascariensis	Madagascar	Fontenille 1989
Anopheles brunnipes	Madagascar	Fontenille 1989
Anopheles coustani	Afrique	Hubalek et Halouzka 1999
Anopheles maculipalpis	Madagascar	Fontenille 1989
Anopheles pauliani	Madagascar	Maquart *et al*. soumis
Coquilletidia metallica	Afrique	Hubalek et Halouzka 1999
Culex antennatus	Madagascar	Fontenille 1989
Culex decens	Madagascar	Fontenille 1989
Culex guiarti	Afrique	Hubalek et Halouzka 1999
Culex neavei	Afrique du Sud	Traore-lamizana *et al*. 1994 ; Jupp 2005
Culex pipiens	Etats-Unis d'Amérique	Aubé-Maurice *et al*. 2005
Culex poicilipes	Afrique	Traore-lamizana *et al*. 1994
Culex quinquefasciatus	Madagascar	Fontenille 1989
Culex scottii	Madagascar	Fontenille 1989
Culex tritaeniorhyncus	Madagascar	Fontenille 1989
Culex univittatus	Madagascar/Afrique du Sud	Fontenille 1989 ; Jupp 2005
Culex weschei	Centrafrique	Cordellier et Geoffroy1976
Lutzia tigripes	Afrique	Savage *et al*. 1999
Mansonia uniformis	« Monde »	Hubalek et Halouzka 1999
Mimomyia hispida	Sénégal	base CRORA
Mimomyia splendens	Afrique	base CRORA

II- Matériels et Méthodes

1-Site d'étude : District de Mitsinjo (Région Boeny)

a- Situation géographique

Le district de Mitsinjo (16°00'42,4''E ; 45°51'58,1''S) est localisé dans la région du Boeny, Province de Mahajanga. Sa superficie est de 8243 Km^2 pour une population de 87131 habitants. Le district de Mitsinjo compte 7 communes dont la commune de Mitsinjo et celle d'Antseza dans lesquelles se trouvent les trois villages servant de sites d'études.

Les enquêtes entomologiques ont été effectuées dans trois villages autour du lac Kinkony, Morafeno (commune Antseza), Ankelimitondrotra (commune Antseza) et Analalava (fokotany Antongomena betsina, commune Mitsinjo (Figure1).

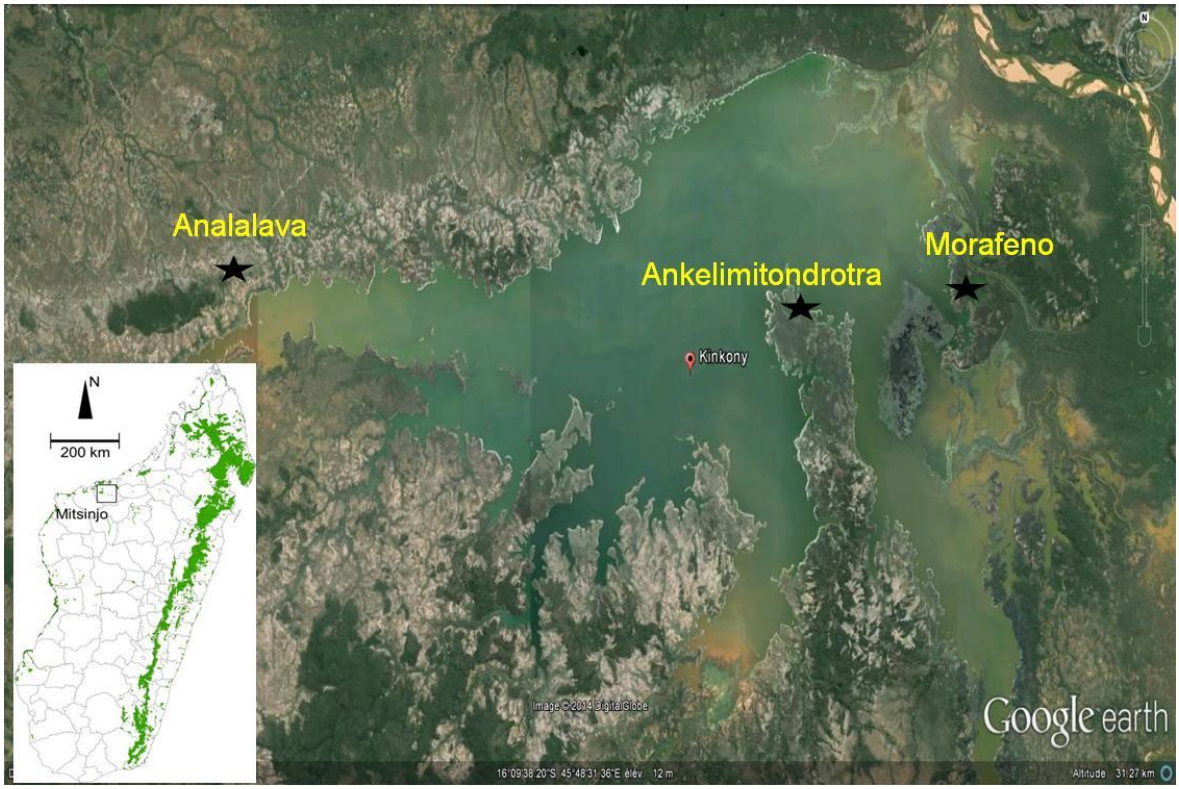


Figure 2: Carte des différents sites d'études dans le district de Mitsinjo (carte en bas et à gauche) : Site 1 : village de Morafeno ; Site 2 : village d'Ankelimitondrotra ; Site 3 : village d'Analalava.

Les trois sites d'études forment un transect Est-Ouest le long du lac Kinkony. Le village de Morafeno (16°08'74.6'' S, 045°55'17.5 E) se trouve à l'extrême Est du lac Kinkony (à

environ 100m du bord du lac), à 34 m d'altitude. Ce village, avec une population de plus de 500 habitants, est entouré par le lac, par une forêt sèche composée de jujubiers et de tamariniers et de cultures vivrières. Les rizières sont rares, de faible superficie (1m² à 3m²) et se trouvent près du bord du lac. Le village d'Ankelimitondrotra est proche de Morafeno (à environ 500m du bord du lac), (16°08'86.7'' S et 045°52'97.3'' E) à 18m d'altitude. Ce village, avec plus de 200 habitants, est entouré par un petit couloir forestier et le lac kinkony à l'Ouest, à l'Est et au Nord par le lac Kinkony, au Sud par de petits champs de culture. Le village d'Analalava se trouve à l'extrême Ouest du lac Kinkony (16°08'35.7''S, 045°42'02.5''E) à 52m d'altitude. Ce village, avec plus de 150 habitants, se trouve à environ 1,5km du bord du lac et est principalement entouré de forêt de manguier et de satrana. La surface des rizières est de1m² à 3m² et elles se trouvent loin du village et du lac.

b- Caractéristiques climatiques de la zone d'étude

Le climat de Mitsinjo est de type tropical. La température moyenne annuelle est de 26.7 °C et il tombe en moyenne 1404mm de pluie par an. Des précipitations moyennes de 1mm font du mois de Juillet le mois le plus sec. Le mois de Janvier, avec une moyenne de 439mm, affiche les précipitations les plus importantes. Au mois de Novembre, la température moyenne est de 28.1°C. Novembre est de ce fait le mois le plus chaud de l'année. Le mois le plus froid est le mois de Juillet avec une température moyenne de 24.5°C. Les précipitations varient de 438mm entre le plus sec et le plus humide des mois. Entre la température la plus basse et la plus élevée de l'année, la différence est de 3.6°C.

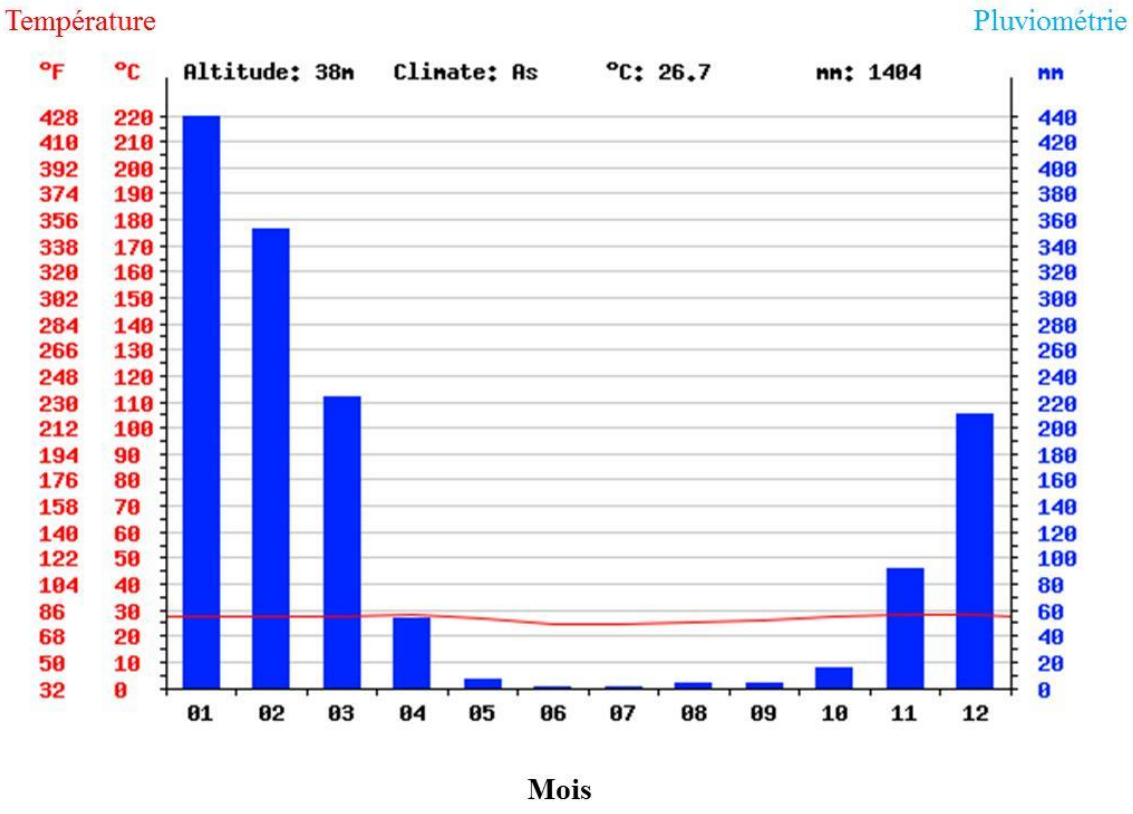


Figure 3: Table climatique du district de Mitsinjo. **(http://fr.climate-data/location/30214)**

2-Méthodologie

a- Période d'étude

Les collectes des moustiques ont été réalisé tous les deux mois depuis Février 2014 jusqu'en Décembre 2014.

b- Matériels de piégeages

L'échantillonnage a été réalisé en combinant deux types de méthodes de piégeages : nous avons utilisé les pièges, BG sentinel (Biogent, Regensburg, Allemagne) et les pièges lumineux type CDC (figure 4). Le choix de ces méthodes de piégeages est dû au fait que le BG sentinel et le piège lumineux type CDC semblent être des méthodes efficaces tant du point de vue quantitatif que qualitatif pour l'étude des moustiques vecteurs potentiels du virus West Nile à Madagascar (Boyer *et al*. 2014).

- Le piège lumineux type CDC

Ce type de piège se base sur le principe que les insectes, du fait de leur phototropisme positif sont attirés par une source de lumière. En effet, le piège est muni d'une lumière blanche qui attire les insectes. Un ventilateur situé dans un contenant en verre transparent aspire ensuite les insectes de petite taille vers la nasse à moustique. Deux clapets mobiles entre le ventilateur nasse à moustique se ferment automatiquement lorsque l'appareil s'éteint. Le piège lumineux type CDC est un piège généraliste et offre une importante information sur la composition spécifique et la densité relative de la faune culicidienne dans la zone d'étude considérée. Le piège lumineux type CDC est alimenté par une batterie chargeable de 6V. Les batteries sont chargées (3 heures au minimum) après chaque utilisation. Il est à noter qu'une batterie chargée fonctionne pendant 11 à 12 heures.

- Le piège BG sentinel

Le BG sentinel est un appareil pliable muni d'une couverture blanche. Il est cylindrique pour une dimension de 36 cm de diamètre à la base sur 40 cm de hauteur. Un ventilateur, situé au fond du sac et alimenté par une batterie de 12 volts, crée un courant d'air ascendant qui achemine l'odeur de l'appât à travers les mailles du couvercle. En principe, différents types d'appâts peuvent être utilisés dans ce type de piège, que ce soit de petits animaux comme les poussins par exemple ou des attractants tel que le CO_2. Le piège BG sentinel permet de capturer des moustiques spécifiques de chaque appât ou attractant utilisé. Les insectes attirés sont aspirés dans le piège, à travers un tuyau noir, par un fort courant d'air descendant crée par le même ventilateur. Les insectes attirés sont retenus dans une pochette noire à maille fine. Le piège BG sentinel est alimenté par une batterie de 12V. Les batteries sont chargées (3 heures au minimum) après un temps d'utilisation de 11 à 12 heures.

4A : les différents constituants d'un BG sentinel.

1. Black intake funnel 2. Funnel net 3. Catch bag 4. White gauze cover 5. White plastic trap 6. Mounting poles 7. Inner suction tube 8. Fan 9. Fan cable

4B :image montrant les mouvements du vent crée par le ventilateur d'un BG sentinel.

Flèche jaune : mouvement descendant du vent

Flèche rouge : mouvement ascendant du vent

Figure 4: Le piège BG sentinel**.**

c- Protocole d'échantillonnage

Une nuit de capture par village a été effectuée. Pour la collecte des moustiques adultes, un protocole de piégeage a été effectué selon un transect lac-village et lisière village-forêt dont chaque ligne est composée chacune de 4 pièges lumineux et de 1 ou 2 BG sentinel[1]. La position de chaque piège a été choisie de façon aléatoire sur chaque ligne du transect avec une distance d'environ 10 m entre chaque piège. Dans chaque village, la 1ere ligne (BG1, BG2, PL1, PL2, PL3, PL4) se trouve au bord du lac, la 2ème ligne (PL5, PL6, BG3, BG4, PL7, PL8) dans le village et la 3ème ligne (PL9, PL10, PL11, PL12, BG5 et/ou BG6) sur la lisière village-forêt. Les pièges sont visités toutes les deux heures pour vérifier leur état de fonctionnement mais aussi pour s'assurer que les appâts dans les pièges BG sentinel restent en place. Comme l'étude se focalise sur les moustiques vecteurs potentiels du virus West Nile, un virus dont les réservoirs naturels sont les oiseaux ; ainsi, des poussins, loués ou achetés chez les habitants de chaque site d'étude, ont été utilisé comme appâts dans les BG sentinel. Les pièges sont posés vers 17 heures avant le coucher du soleil.

[1] Les BG sentinel n'ont pas pu être utilisés au mois d'Août 2014 à Analalava faute d'appâts.

Figure 5: Piège lumineux et piège BG sentinel posés dans le village.

d- Identification et traitement des moustiques capturés

Les moustiques ont été récupérés vers 6 heures du matin. Les moustiques collectés ont été asphyxiés dans une boîte contenant de la vapeur de chloroforme, puis triés sous loupe binoculaire et identifiés morphologiquement à l'aide d'une clé d'identification (Fontenille 1989, da Cunha Ramos et Brunhes 2004, Brunhes et al. 2011). Les moustiques identifiés, sont comptés, et mis en lots mono spécifiques dans des cryotubes de 1,5 ml selon le village, le transect, l'emplacement des pièges, le sexe et l'état de gorgement pour le cas des femelles et ensuite mis dans de l'azote liquide pour conservation sur terrain et conservés à -80°C à l'Institut Pasteur de Madagascar.

6A : récolte des nasses à moustique le matin.

6B : triage, identification, comptage des moustiques

6C : conservation dans de l'azote liquide

Figure 6: Identification et conservation des moustiques capturés.

3-Analyse des données

Le logiciel Microsoft Excel 2007 a été utilisé pour saisir les données et pour faire les graphiques. Pour l'analyse des données, le logiciel statistique R i386 3.1.1(R Foundation for Statistical Computing, 2014, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/) pour Windows a été utilisé. Les noms des genres a été abrégé comme suit : *Ad. = Aedeomyia* ; *Ae. = Aedes ; An. = Anopheles ; Cx. = Culex.* ; *Ma. = Mansonia ; Ur. = Uranotaenia* (Reinert, 2009).

Pour la mesure de la diversité, l'indice de Jaccard J (Jaccard, 1901) a été calculé, en se basant sur la présence ou l'absence des espèces de moustiques dans chaque village, pour connaître la similarité de la biodiversité culicidienne entre les trois villages **(Equation 1)** et un dendrogramme de similarité entre les différents villages considérés a été établi. L'indice de Shannon H' (Whittaker, 1972) a été calculé pour comparer la diversité culicidienne entre les villages de Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava **(Equation 2)**.

$$Indice_{jaccard} = C / [(N_1+N_2)-C]$$

Équation 1: Formule de l'indice de JACCARD

N1 = nombre d'espèces présentes dans le village 1, N2 = nombre d'espèces présentes dans le village 2 et C = nombre d'espèces communes aux deux villages.

$$H' = -\sum (ni/N) \text{ Log } (ni/N)$$

Équation 2: Formule de l'indice de SHANNON.

Ni : nombre total d'individus d'une espèce

N : nombre total d'individus de toutes les espèces présentes.

H' : indice de SHANNON

Le test ANOVA ou « analysis of variance » a été utilisé pour déterminer si le nombre de moustique capturé et le nombre d'espèces capturées diffèrent entre Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava ainsi que entre le lac, le village et la limite village-forêt et entre les mois de captures. L'Analyse en Composantes Principales a été utilisée pour décrire la relation entre les variables village, transect et mois de capture avec la distribution et la densité relative de chaque espèce potentiellement vectrice du virus West Nile autour du lac Kinkony durant la période d'étude.

III- Résultats

1- Biodiversité

24 espèces réparties en 7 genres ont été observées. Dix espèces de moustiques parmi les 24 espèces observées autour du lac Kinkony sont communes à Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava. 15 espèces (appartenant à 4 genres) sont présentes dans le village de Morafeno. Dans le village d'Ankelimitondrotra, 14 espèces (5 genres). Dans le village d'Analalava 19 espèces (5 genres). Mis à part les 10 espèces que partagent ces trois villages, *An. grassei* et *Ad. pauliani* représentées chacune par un seul spécimen, ont été trouvées uniquement dans le village de Morafeno, augmentant sa diversité spécifique. *Cx annulioris* et *Cx. argenteopunctatus* sont présentes seulement dans le village d'Ankelimitondrotra. *An. funestus* est présente à Morafeno et Ankelimitondrotra. *Ae. albodorsalis, Ae. tiptoni, An. maculipalpis, An. pretoriensis, Cx. decens* et *Cx. simpsoni/comorensis* sont présentes uniquement dans le village d'Analalava. *An. mascarensis* est commune aux deux villages Morafeno et Analalava alors que *Cx. univittatus/neavei* est commune aux villages d'Analalava et d'Ankelimitondrotra. Notons en outre que le genre *Uranotaenia, Aedeomyia, Culex, Aedes* et *Anopheles* ont respectivement des individus (70 au total) qui n'ont pas encore été identifiés jusqu'au niveau spécifique due principalement au mauvais état des spécimens particulièrement ceux qui ont été collecté avec les pièges lumineux.

La figure 7 représente la courbe cumulative du nombre d'espèces observés autour du lac Kinkony entre Février et Décembre 2014. D'après cette figure, le nombre total d'espèces observées augmente depuis le mois de Février jusqu'au mois d'Août et présente un plateau vers la fin de notre étude. Ce plateau montre que l'on a détecté la majorité des espèces de culicidae présentes dans la zone d'étude. Après la 4ème mission, 24 espèces ont été décrites autour du lac, nombre qui s'est stabilisé malgré 2 missions supplémentaires.

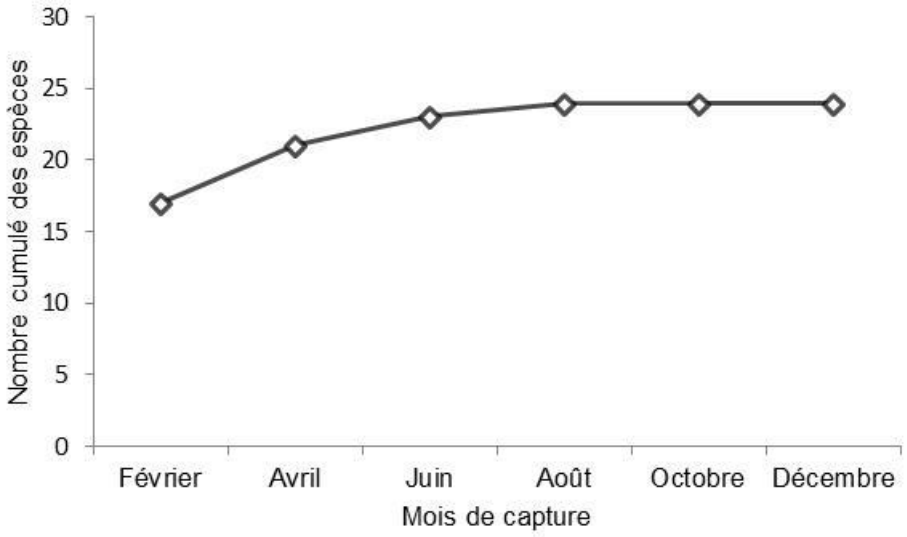


Figure 7: Courbe cumulée du nombre d'espèces observées autour du lac Kinkony entre Février 2014 et Décembre 2014.

Le tableau 2 décrit la diversité culicidienne observée autour du lac Kinkony entre Février 2014 et Décembre 2014. Le nombre de moustiques capturé dans les villages est corrélé à la proximité du lac ($F=64,71$, $P<0.0001$). En effet, plus le village est proche du bord du lac, plus le nombre de moustiques capturés est élevé. Dans l'ensemble des trois villages, 2416 moustiques adultes ont été capturés. L'abondance des moustiques est plus élevée dans le village de Morafeno avec n=1493, suivi du village d'Ankelimitondrotra avec n=734 et enfin Analalava, avec n=189, semble être le village où les moustiques sont les moins abondants.

Selon l'indice de diversité de Shannon, les espèces de moustiques présentes dans le village d'Analalava ont des abondances similaires (H'=2,61) tandis que à Morafeno (H'=0,54) et à Ankelimitondrotra (H'=0,56), l'abondance de l'espèce *Ad. madagascarica* domine celles des autres espèces. La composition spécifique est similaire entre Morafeno et Ankelimitondrotra tandis qu'elle est éloignée entre ces deux villages et le village d'Analalava (Figure 8). Elle est plus proche entre le village de Morafeno et celui d'Ankelimitondrotra (J=0,61). Entre Morafeno et Analalava, moins de la moitié du nombre total d'espèces présentes dans un village est partagé entre les deux (J=0,41). Entre Analalava et Ankelimitondrotra, la moitié du nombre total d'espèces présentes dans un village est partagé entre les deux (J=0,5).

Tableau 2: Description générale de la diversité culicidienne dans les trois villages.

		Morafeno	Ankelimitondrotra	Analalava	Total
Nombre total de moustiques		1493	734	189	2416
Nombre d'espèces		15	14	19	24
Nombre d'espèces spécifiques		2	2	6	
Nombre total d'individus vecteurs potentiels du virus West Nile		1407 (58%)	686 (28,39%)	109 (4,5%)	2202
Nombre d'espèces potentiellement vectrices du virus West Nile		7	6	10	10
Indice de diversité de Shannon		0,54	0,56	2,61	
Indice de Similarité de Jaccard	Morafeno	1			
	Ankelimitondrotra	0,61	1		
	Analalava	0,41	0,5	1	

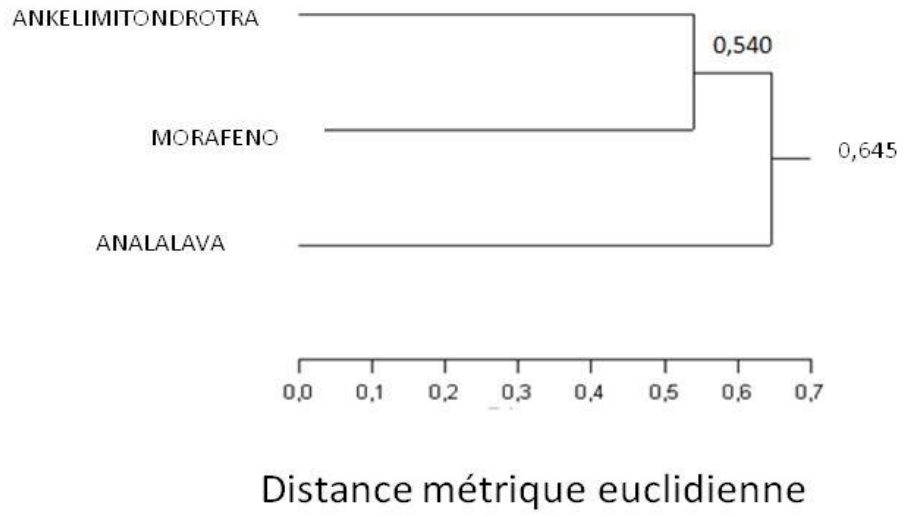


Figure 8: Dendrogramme de similarité entre le village d'Ankelimitondrotra, de Morafeno et d'Analalava dans le district de Mitsinjo

2-Abondance spécifique relative

Pour l'ensemble des trois sites d'études, l'abondance relative de chaque espèce est donnée dans le tableau 3.

Tableau 3: Abondance spécifique et biodiversité dans l'ensemble des trois villages.

Espèce	Morafeno		Ankelimitondrotra		Analalava		
	PL	BG	PL	BG	PL	BG	Total
Ad. sp	22	1	20	0	0	0	43
Ad. madagascarica	1079	222	577	57	16	1	1950
Ad. pauliani	1	0	0	0	0	0	1
Ae. sp	0	0	0	1	0	0	1
Ae. albodorsalis	0	0	0	0	0	1	1
Ae. tiptoni	0	0	0	0	0	8	8
An. sp	2	0	1	2	3	0	8
An. coustani	10	0	7	0	5	0	22
An. funestus	5	1	2	0	0	0	8
An. gambiae	18	0	2	2	25	2	49
An. grassei	5	0	0	0	0	0	5
An. maculipalpis	0	0	0	0	8	0	8
An. mascarensis	0	1	0	0	7	2	10
An. pauliani	25	0	0	0	0	15	40
An. pharoensis	24	3	24	0	7	0	58
An. pretoriensis	0	0	0	0	1	0	1
An. squamosus/cydipis	9	3	4	3	14	2	35
Cx. sp	8	2	0	1	1	1	13
Cx. antennatus	10	0	3	0	11	0	24
Cx. annulioris	0	0	1	0	0	0	1
Cx. argenteopunctatus	0	0	1	0	0	0	1
Cx. bitaeniorhynchus	2	0	4	0	2	0	8
Cx. decens	0	0	0	0	11	3	14
Cx. poicilipes	22	0	4	0	1	6	33
Cx. simpsoni/comorensis	0	0	0	0	1	0	1
Cx. tritaeniorhynchus	6	0	2	0	1	0	9
Cx. univittatus/neavei	0	0	0	1	1	4	6
Ma. uniformis	5	6	10	4	12	14	51
Ur. sp	0	1	1	0	3	0	5
Total	1253	240	663	71	130	59	2416

L'abréviation BG représente les pièges Biogent Sentinel tandis que PL représente les pièges lumineux type CDC. Les espèces dont les noms sont en gras sont celles qui ont été trouvées infectées naturellement par le virus West Nile à Madagascar d'après la littérature.

Tableau 4: Analyse statistique de l'influence du facteur village, facteur transect et du facteur mois sur le nombre de moustique capturé autour du lac Kinkony (test Anova à 3 facteurs).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Facteur village	2	9.718	4.8592	228.0420	< 2.2e-16
Facteur transect	3	5.987	1.9958	93.6646	< 2.2e-16
Facteur mois	5	30.770	6.1540	288.8073	< 2.2e-16
Facteur village :Facteur transect	4	2.115	0.5288	24.8143	< 2.2e-16
Facteur transect :Facteur mois	10	1.985	0.1985	9.3140	< 2.2e-16
Facteur village :Facteur mois	10	20.184	2.0184	94.7261	< 2.2e-16
Facteur village:Facteur transect :Facteur mois	20	4.611	0.2306	10.8206	< 2.2e-16
Residuals	2481	52.866	0.0213		

Le nombre moyen de moustique capturé est significativement diffèrent entre Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava ($F=228,04$, $P<0.0001$). Une variation du nombre de moustique capturé a été observé entre le bord du lac, le village et sur la limite village-forêt. En général, la plus grande proportion du nombre de moustique capturé a été observé sur le bord du lac et la plus faible proportion du nombre de moustique capturé a été observé sur la limite village-forêt et cette différence de nombre de moustique capturé entre le bord du lac, le village et sur la limite village-forêt est significative pour l'ensemble des espèces de culicidae observée pendant cette étude ($F=93,66$, $P<0.0001$). Une variation du nombre de moustique capturé a été aussi observé entre les mois où ce sont déroulés les captures. Le nombre de moustique capturé a été faible au mois de Février et au mois d'Octobre contrairement au mois d'Avril, Juin et Août où le nombre de moustique capturé a été élevé ($F=288,80$, $P<0.0001$). Les effets combinés des facteurs village et transect, village et mois de capture et transect sur le nombre de moustique capturé ont été significativement différents (tableau 4).

3-Distribution spatiale

Tableau 5: Influence du facteur village et du facteur transect sur le nombre d'espèces présentes autour du lac Kinkony (test Anova à deux facteurs).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
facteur village	2	5.91	2.9556	0.3363	0.7166
facteur transect	2	10.84	5.4222	0.6169	0.5452
facteur village:facteur transect	4	61.96	15.4889	1.7623	0.1579
Residuals	36	316.40	8.7889		

Le nombre d'espèces observés ne diffère pas significativement entre Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava (F=0,33, P=0,71). Le nombre moyen d'espèces observées varie suivant le transect bord du lac- village-lisière -forêt. Cette observation montre une hétérogénéité spatiale dans la répartition des espèces le long du transect bord du lac, village et limite village-forêt. Cependant, le nombre d'espèces présentes ne diffère pas significativement entre le lac, le village et sur la limite village-forêt (F=0,61, P=0,54) et que le facteur village et le facteur transect n'ont pas d'effet sur le nombre d'espèces (F=1,76, P=0,15).

La figure 9 montre la distribution des 10 espèces potentiellement vectrices du virus West Nile autour du lac Kinkony. La distance du village par rapport au lac semble être liée à la densité relative de l'espèce *Ad. madagascarica.* L'espèce *Ad. madagascarica* a été trouvée en forte proportion à Morafeno (53,84%) et Ankelimitondrotra (33,36%), 2 villages qui sont respectivement à 100m et à 500m du bord du lac, tandis que à Analalava *Ad. madagascarica* a été trouvée à une faible proportion (0,70%). Au niveau transect, *Ad. madagascarica* a été trouvée au bord du lac, dans le village et sur la limite village-forêt. *Ad. madagascarica* a été a été trouvée tout le long de la saison sèche avec un pic de densité au mois de Juin et d'Août, qui ne semble pas être associée à la pluviométrie puisque le mois de Juin et le mois d'Août font partie des mois les plus sec de l'année avec des précipitations variant de 1mm à 5mm.

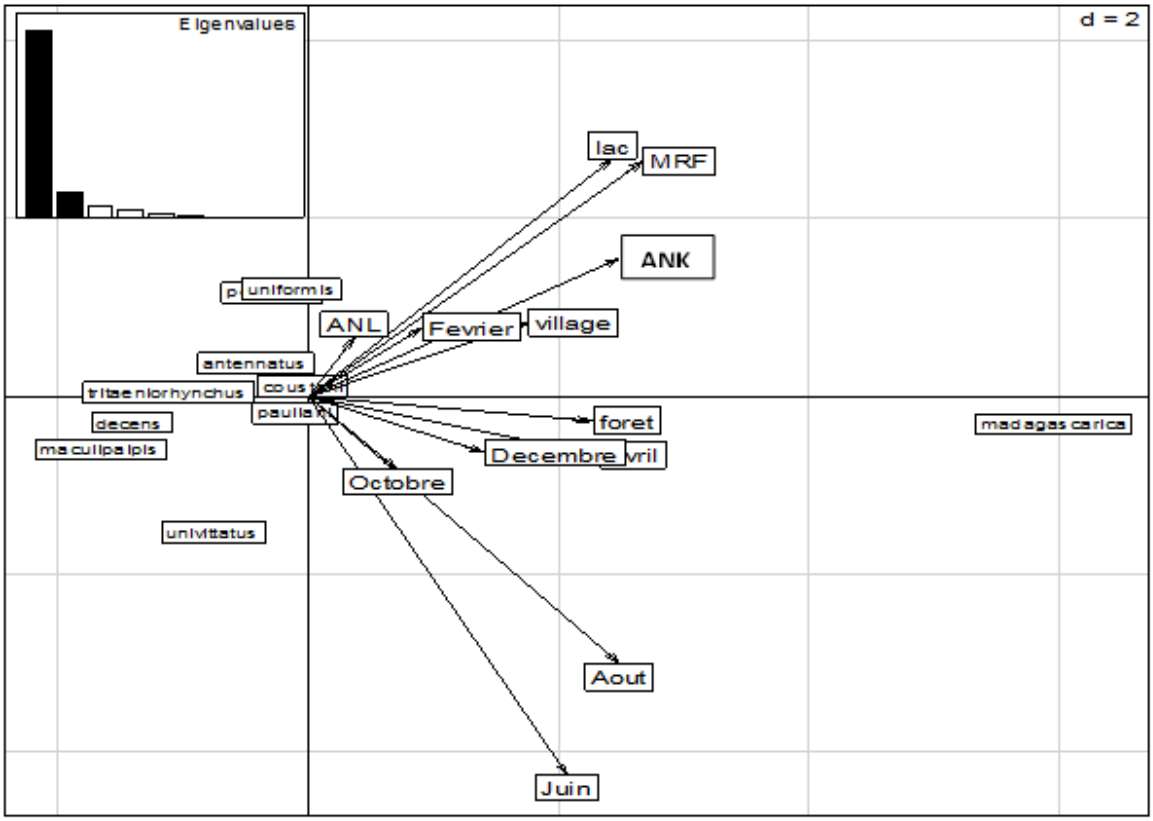


Figure 9: Description de la distribution des 10 espèces potentiellement vectrices du virus West Nile observées autour du lac Kinkony de Février à Décembre 2014. MRF : Morafeno ; ANK : Ankelimitondrotra, ANL : Analalava.

La forte densité relative de l'espèce *Ad. madagascarica* lui confère un poids important lors de l'Analyse en Composante Principale (ACP), un poids qui cache l'hétérogénéité de la relation entre les villages, les points du transect et les mois de captures avec les autres espèces. De ce fait une ACP sans l'espèce *Ad. madagascarica* a été éffectuée.

La figure 10 donne le résultat de cette ACP pour le cas des 9 espèces vectrices potentielles présentes autour du lac Kinkony. La distance du village par rapport au bord du lac et la pluviométrie semble être associées à la densité relative de chaque espèce potentiellement vectrice du virus West Nile. Cette association est surtout marquée, au niveau village, par une opposition entre Analalava (village à plus de 1km du bord du lac) et Morafeno (village à 100m du bord du lac) et, au niveau mois, par une opposition entre le mois de Février (précipitation moyenne=350mm) et le mois de Juin (précipitation moyenne=5mm). Aucune des deux espèces, *Cx. decens* et *An. maculipalpis*, n'ont été trouvées dans les villages proches du lac. La densité relative de *Ma. uniformis* semble augmenter lorsque la distance du village par rapport au bord du lac augmente. Inversement la densité relative de *Cx. poicilipes* semble

augmenter lorsque la distance par rapport au lac diminue. *Cx. tritaeniorhyncus, Cx. antennatus, An. coustani* et *An. pauliani* ont une densité similaire à Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava. *Cx. univittatus/neavei* a été seulement trouvée à Ankelimitondrotra et à Analalava. En général, la densité relative des 9 espèces vectrices potentielles du virus West Nile observées durant notre étude a diminué de Février à Octobre.

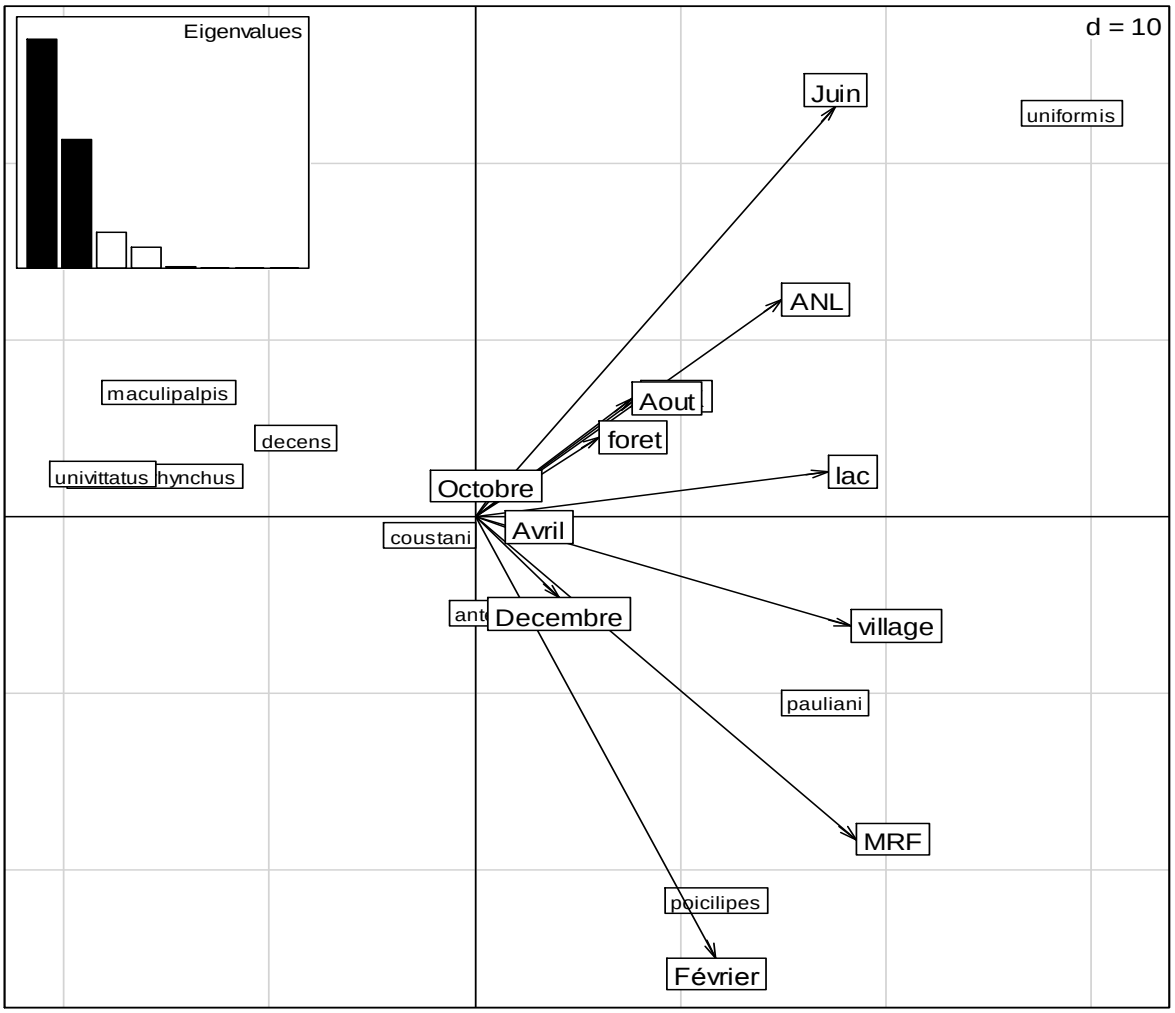


Figure 10: Description de la distribution des espèces potentiellement vectrices (sans *Ad. madagascarica*) du virus West Nile observées autour du lac Kinkony de Février à Décembre 2014. MRF : Morafeno ; ANK : Ankelimitondrotra, ANL : Analalava

4-Dynamique des populations de moustiques

Tableau 6: Analyse statistique de l'effet combiné des facteurs village et mois de capture sur le nombre de moustique présentes autour du lac Kinkony. (Test ANOVA à deux facteurs)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Facteur village	2	9.718	4.8592	228.0420	2.2e-16
Facteur mois	5	30.770	6.1540	288.8073	2.2e-16
Facteur village:facteur mois	10	16.943	1.6943	79.5138	2.2e-16
Residuals	2481	52.866	0.0213		

L'étude de la dynamique des populations de moustiques a été réalisée en analysant les résultats obtenus avec les pièges lumineux type CDC.

Le village et le mois de capture de capture ont un effet significatif sur le nombre de moustiques capturés (tableau 6). La figure 11 montre la variation de la densité moyenne des moustiques autour du lac Kinkony de Février à Décembre 2014. A Morafeno, la densité des moustiques augmente du mois de Février au mois de Juin, présente un pic de densité au mois d'Août puis diminue drastiquement au mois d'Octobre puis la densité commence à augmenter au mois de Décembre après la première tombée des pluies. A Morafeno, La densité des moustiques est différente entre le mois de Février et les mois d'Avril, Juin et Août. Pour Ankelimitondrotra, la densité des moustiques augmente du mois de Février au mois d'Avril ; après un pic de densité au mois d'Avril, la densité des moustiques diminue progressivement jusqu'au mois d'Octobre et Décembre. A Ankelimitondrotra, la densité des moustiques est différente entre le mois d'Avril et les mois de Février, Juin, Août et Octobre. Pour Analalava, la densité des moustiques est faible et ne varie que très peu du mois de Février au mois de Décembre.

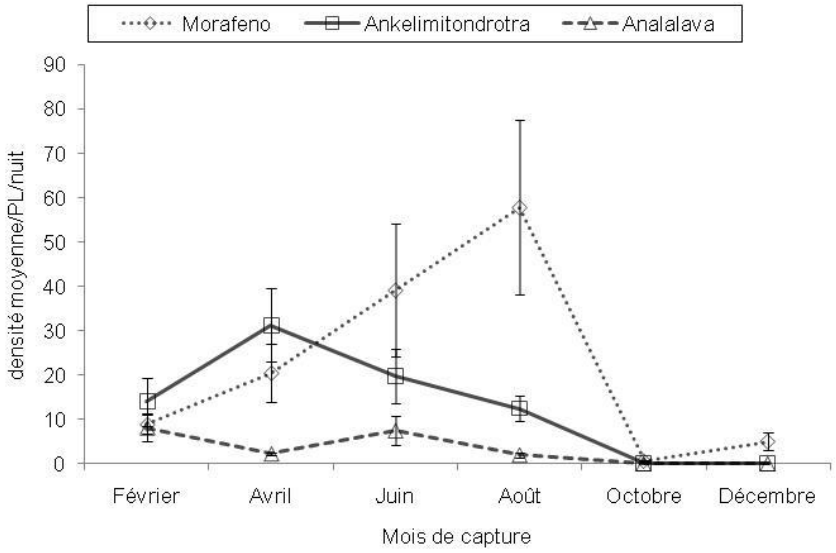


Figure 11: Densité des moustiques à Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava de Février à Décembre 2014.

PL : Piège lumineux type CDC.

La figure 12 représente la variation de la densité moyenne d'*Ad. madagascarica* et des autres espèces de moustiques autour du lac Kinkony de Février à Décembre. La densité moyenne de la population de moustiques autour du lac Kinkony a été dépendante de la densité de l'espèce *Ad. madagascarica.* En effet, la densité moyenne d'*Ad. madagascarica* est proportionelle à la densité moyenne de la population de moustiques en général durant la période d'étude. Si la densité d'*Ad. madagascarica* augmente, la densité de la population de moustiques en général augmente et inversement. La densité d'*Ad. madagascarica* augmente du mois de Février au mois d'Avril puis reste constante d'Avril à Août et la densité d'*Ad. madagascarica* et diminue pour atteindre sa valeur la plus faible au mois d'Octobre puis commence à augmenter au mois de Décembre . Pour le cas des autres espèces restantes, elles ont été rares et leur densité générale ne varie que faiblement durant la période d'étude.

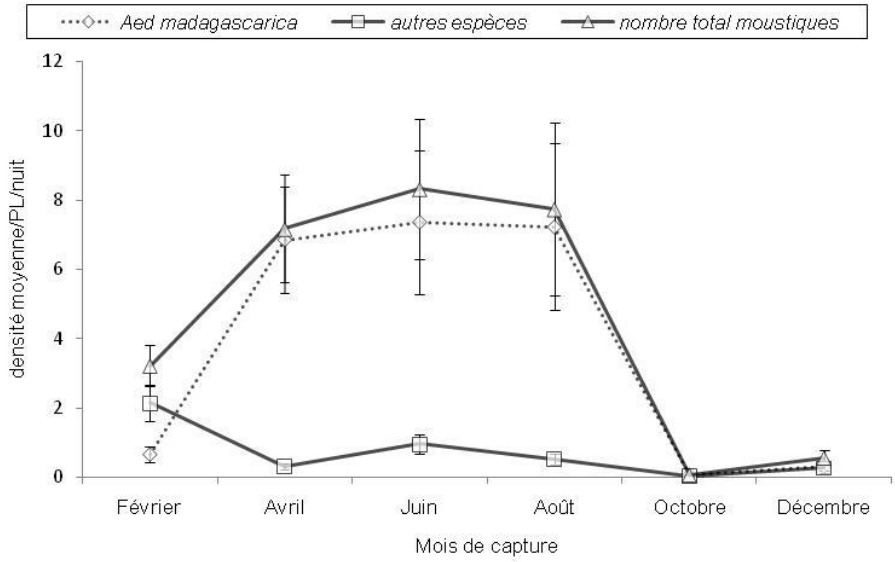


Figure 12: Densité moyenne d'*Ad. madagascarica* et des autres espèces de moustiques de Février à Décembre 2014.

PL : Piège lumineux type CDC.

5-Attraction des moustiques pour les oiseaux domestiques

Les résultats des collectes des moustique avec les pièges BG sentinel permettent de faire une estimation de l'attractivité des oiseaux domestiques sur les vecteurs potentiels du virus West Nile (Figure 13). *Ma. uniformis* représente 6,5% du nombre total des moustiques capturés avec les BG sentinel. Trois espèces appartenant au genre *Culex, Cx. decens, Cx. poicilipes* et *Cx. univittatus/neavei* représentent respectivement 0,81%, 1,89% et 1,35% du nombre total des moustiques capturés avec les BG sentinel. *Ad.madagascarica*, l'espèce la plus abondante dans l'ensemble des trois villages durant la période d'échantillonnage mais aussi dans l'ensemble des moustiques capturés avec les pièges BG sentinel puisqu'elle représente 76,96% du nombre total des moustiques collectés. *An. pauliani* a été capturée avec les pièges BG sentinel seulement à Analalava avec une proportion de 4,06%. Il faut noter qu'aucune des autres espèces qui ont été associées au virus West Nile, *An. coustani, An. maculipalpis, Cx. antennatus* et *Cx. tritaeniorhyncus*, n'ont été capturées avec ce type de piège. Outre les moustiques vecteurs potentiels du virus West Nile, 7 autres espèces de moustiques ont été collectées dans les BG sentinel. Ces espèces sont *An. squamosus/cydipis, An. pharoensis, An. mascarensis, An. gambiae, An. funestus, Ae. tiptoni* et *Ae. albodorsalis*.

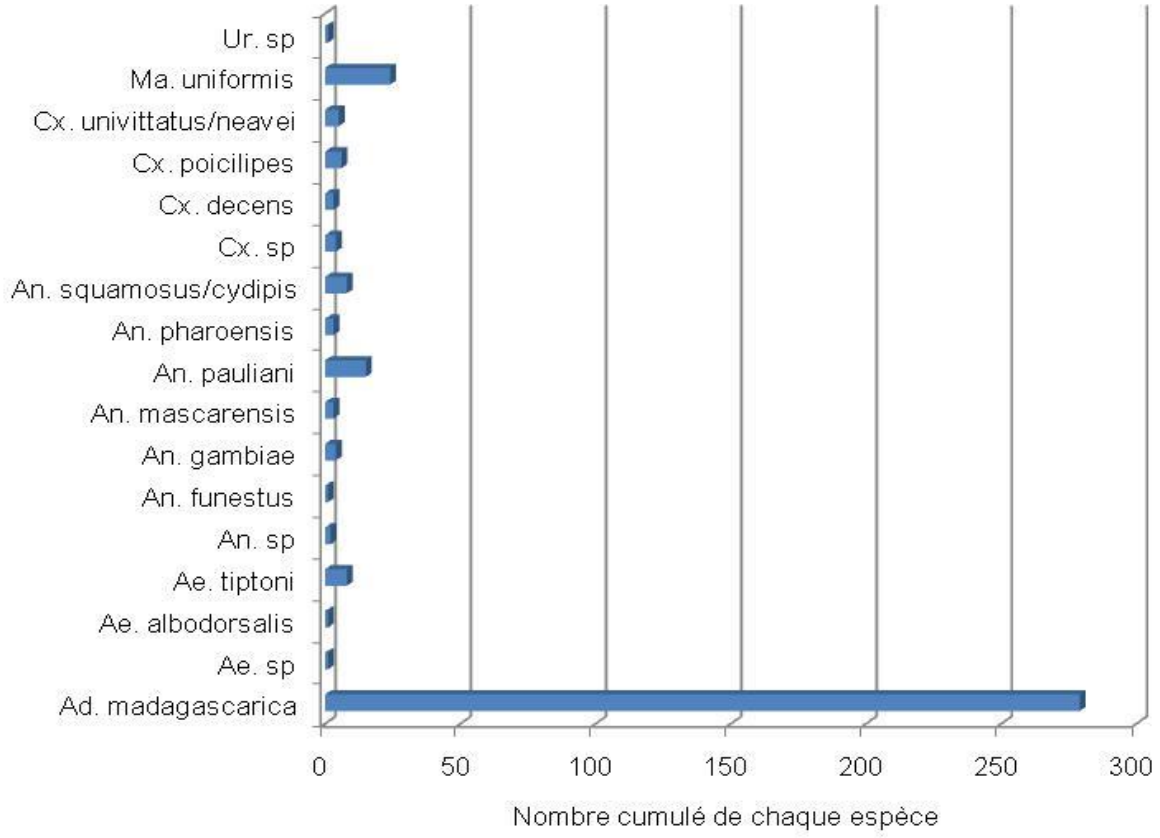


Figure 13: Effectifs des moustiques collectés dans les BG sentinel dans l'ensemble des trois villages.

IV- Discussions

Biodiversité et abondance

Nos résultats ont montré que 24 espèces de moustiques parmi les 229 espèces décrites à Madagascar (Tantely 2013) sont présentes autour du lac Kinkony. Ces 24 espèces ont déjà été signalée dans cette région (Grejbine 1953, Fontenille 1989, Boyer et al. 2014). Parmi les 24 espèces inventoriées, 10 d'entre elles sont associées au virus West Nile (Tantely et al. soumis ; Maquart et al. soumis). Ces espèces sont *An. coustani, An. maculipalpis, Cx. antennatus, Cx. decens, Cx. poicilipes, Cx. tritaeniorhyncus, Cx. univittatus/neavei, Ma. uniformis, An. pauliani et Ad. madagascarica.* Comparé à d'autres biotopes prospectés dans la région du Boeny, les villages autour du lac Kinkony sont moins riches en espèces. Dans la forêt d'Ampijoroa par exemple, 57 espèces de moustiques ont été signalé dans ce biotope (Grejbine 1953, Fontenille 1989). Cependant, la comparaison des résultats obtenus avec ceux

d'une étude faite dans d'autres villages autour du lac Kinkony (Boyer et al. 2014) ont montré que quantitativement le nombre d'espèces capturées est à peu près le même, mais une différence est observée au niveau de la composition spécifique. Cette différence est surtout marquée par une différence entre le nombre d'espèce appartenant au genre *Aedes*. Lors de notre étude, seulement 2 espèces du genre *Aedes* ont été capturées, *Ae. albodorsalis* et *Ae. tiptoni* alors que 5 espèces, *Ae. aegypti, Ae. albocephalus, Ae. albodorsalis, Ae. durbanensis et Ae. fowleri,* ont été observée dans les villages autour du lac Kinkony en 2012 (Boyer et al. 2014). Cette différence est probablement due à la différence de précipitations observée entre le début de la saison humide entre l'année 2012 et l'année 2014. En effet, moins de pluies est tombées durant notre période d'étude. L'abondance de la pluie contribuant d'une part à l'immersion des œufs appartenant aux espèces du genre *Aedes* restés en état de quiescence le long de la saison sèche (Crans, 2004) et d'autre part à la présence de plusieurs espèces du genre *Aedes*.

Les espèces de moustiques appartenant aux genres *Anopheles, Culex* et *Mansonia* étaient peu abondantes durant cette étude, résultats similaires à ceux obtenus par ceux de Boyer et al. (2014) en saison des pluies dans les villages autour du lac Kinkony mais aussi dans les biotopes forestiers de l'ouest de Madagascar (Fontenille 1989). La faible abondance de ces moustiques est probablement liée à la rareté des gîtes larvaires observés dans les sites d'études. Une exception qui contredit cette observation est le cas de l'espèce *Ad. madagascarica*. *Ad. madagascarica* n'a été connue que sur la côte orientale de Madagascar (Brunhes et al. 2011), nos résultats confirment sa présence dans le domaine de l'ouest, domaine biogéographique où elle a été récemment signalée (Boyer et al. 2014). L'abondance, observée durant cette étude, pourrait être considérée comme une caractéristique des villages autour du lac kinkony tout comme les biotopes forestiers sont caractérisés par l'abondance en individu du genre *Aedes* notamment de *Ae. albocephalus*, une espèce chez laquelle le virus West Nile a été aussi isolée (Fontenille 1989). Parmi les facteurs qui peuvent expliquer cette abondance est l'abondance des gîtes larvaires mais la biologie de cette espèce est encore inconnue à Madagascar. Cependant, la présence d'eau peu profondes et ensoleillées due au décrue du lac avec une végétation dressée ou flottante pourrait favoriser l'abondance des espèces du genre *Aedeomyia* autour du lac Kinkony (Brunhes et al. 2011).

Dynamique de la population de moustiques autour du lac Kinkony

La transmission d'un agent pathogène par un vecteur est conditionnée i) par une densité suffisante de l'espèce dans la zone, ii) à la période où le pathogène circule et iii) qu'elle se

nourrisse sur les hôtes impliqués dans le cycle de transmission (Combes, 2001). Parmi les 24 espèces de moustiques observées autour du lac Kinkony durant cette étude, *Ad. madagascarica* a été l'espèce la plus abondante et présente une densité importante durant la saison sèche, particulièrement du mois d'Avril au mois d'Août. Ces résultats sont en contraste avec ceux observés par d'autres auteurs où les espèces de moustiques sont plus abondantes durant la saison humide (Fontenille 1989 ; Tantely, 2013). La saison humide, autour du lac Kinkony, est surtout marquée par une proportion élevée en nombre d'individu de *Ae. albocephalus*, une autre espèce connue pour être potentiellement vectrice du virus West Nile (Fontenille 1989, Boyer *et al*. 2014, Maquart *et al*. soumis). Une succession de différentes espèces suivant les saisons pourrait ainsi être observée autour du lac Kinkony et peut contribuer à une circulation permanente du virus West Nile pendant toute l'année. Cependant aucune *Ae. albocephalus* n'a été observée durant notre période d'étude. Une observation qui pourrait être liée à la pluviométrie observée durant la période d'étude. Néanmoins, la présence de différentes espèces vectrices potentielles du virus West Nile en saison sèche et en saison humide pourrait corroborer avec la circulation du virus West Nile en saison sèche (Fontenille 1989, Maquart *et al*. soumis).

Distribution des espèces observées autour du lac Kinkony

Nos résultats ont montré que le nombre moyen d'espèces de moustiques observé dans les villages autour du lac Kinkony est statistiquement la même malgré la distance de chaque village par rapport au bord du lac et l'existence de zone écologique dans chaque village. Cette homogénéité spatiale des espèces de moustiques pourrait s'expliquer par la courte échelle de notre zone de travail, allant de 100m à environ 800m partant du bord du lac, qui n'influe pas sur la disponibilité des hôtes vertébrés, conditionnant la présence des moustiques, ainsi que la dispersion et la distance des vols des moustiques pour la recherche des hôtes vertébrés. En effet, pour trouver un hôte, les femelles peuvent aller de 0,5 à 2 km par nuit (Walton *et al*. 1999) et même, pour les femelles plus âgées cette distance peut dépasser plus de 5 km par nuit (Briegel *et al*. 2001).

En général, la densité faible des espèces de moustiques vecteurs potentiels, à l'exception d'*Ad. madagascarica*, observée durant cette étude pourrait être liée aux conditions climatiques qui règnent dans cette zone. L'ouest de Madagascar fait partie du domaine bioclimatique sec caractérisé par une précipitation annuelle variant entre 800 et 1500mm avec une longue saison sèche de plus de 7 mois (Cornet, 1974). Les gîtes larvaires sont réduits pendant la saison sèche et la densité des moustiques est faible (Charlwood *et al*. 1995).

Toutefois, *Ad. madagasacarica* présente un cas particulier. En effet, la saison sèche semble être favorable à une augmentation de la densité d'*Ad. madagascarica*. Une saison sèche qui entraîne la décrue du lac Kinkony avec la formation d'eaux peu profondes et ensoleillées avec une végétation dressée ou flottante décrites comme des gîtes larvaires favorables aux espèces du genre *Aedeomyia* (Brhunes *et al*. 2011). *Cx. tritaeniorhyncus, Cx. antennatus, An. coustani ,An. pauliani, Cx. poicilipes* et *Ma. uniformis* sont présentes à Morafeno, Ankelimitondrotra et Analalava tandis que *Cx. decens* et *An. maculipalpis* semble plutôt être limité au village éloigné du bord du lac. La distance du village par rapport au lac oblige les villageois d'une part à utilisé des canaux d'irrigation pour les rizières et d'autre part des puits pour leur consommation d'eau ce qui pourrait être des gîtes favorables au développement larvaires de *Cx. decens* et d'*An. maculipalpis* (Doucet 1951, Fontenille 1989). Ces deux types de structures, canaux d'irrigations et puits n'ayant été pas observés dans les villages proches du lac où les villageois utilisent directement l'eau du lac pour leur consommation et les rizières sont près du bord du lac. Inversement, *Ad. madagascarica* semble être limité au village proche du lac, village où les gîtes potentiels constitués par une eau peu profonde et ensoleillée, avec des végétations dressée, et flottantes est observée durant la saison sèche.

Attractivité des oiseaux domestiques sur les espèces potentiellement vectrices du virus West Nile

Les résultats obtenus ont montré que 6 espèces potentiellement vectrices du virus West Nile parmi les 10 espèces associées à ce virus collectés dans la zone d'étude ont été capturées avec les BG sentinel dont les appâts utilisés ont été des poussins. Ces espèces sont *Ad. madagascarica, An. pauliani, Cx. decens, Cx. univittatus/neavei, Cx. poicilipes* et *Ma. uniformis*. Ces résultats offrent une indication sur le type d'hôte sur lequel ces espèces pourraient prendre leur repas sanguins et pourraient être un reflet de la probabilité d'infection du virus West Nile chez ces espèces (Balenghien *et al*. 2007) étant donné que ces espèces pourraient se nourrir sur les oiseaux impliqués dans le cycle de transmission (Combes, 2001). Les auteurs, Gillies et Wilkes (1974) ont trouvé que d'autres composés volatils autres que le CO_2 pourraient jouer un important rôle dans l'attractivité des oiseaux pour les moustiques. Plusieurs composés volatils ont été identifiés et extraits à partir des plumes de poulets (Williams *et al*. 2003) ; mais aucun de ces composés, testés en laboratoire, n'ont attiré de moustiques (Allan *et al*. 2006). Cependant, Allan *et al*. (2006) ont trouvé que les plumes contribuent à l'attraction des moustiques de plusieurs espèces de *Culex* mais d'autres études doivent être entreprises pour identifier les composés attractifs. Ces observations suggèrent que nos résultats avec les pièges BG sentinel offrent une idée sur les espèces de moustiques

pouvant être attirés par les oiseaux domestiques. L'espèce *Ad. madagascarica*, a elle seule, constitue 76,96% des individus capturés dans les pièges BG sentinel. Ce résultat va dans le sens d'un comportement ornithophile, de cette espèce, qui a déjà été observé par d'autres auteurs (Doucet, 1951 ; Grejbine, 1953). L'espèce *Cx. univittatus/neavei* a été capturée dans les pièges BG sentinel avec une faible proportion mais il faut noter que cette espèce a été aussi capturée sur des doubles moustiquaires pièges appâtés avec des volailles sur les hautes terres centrales de Madagascar (Tantely 2013). Les résultats obtenus par Tantely (2013) ont montré, en testant l'origine de leur repas de sang, qu'un individu sur 10 pouvait se gorger sur les volailles, les autres repas étant pris sur les zébus et les chiens. En Afrique du Sud, une étude, réalisée à l'aide des tests de précipitine, a révélé une proportion élevée de *Cx. univittatus* positive pour le poulet. La présence de *Cx. decens* parmi les espèces capturées avec les pièges BG sentinel est corroborée avec les observations de Rickenbach *et al*. (1974) au Cameroun qui a montré que *Cx. decens* pouvait se gorger en partie sur les oiseaux. Selon Boreham et Snow (1973), cité par Rickenbach *et al*. (1974), les repas de *Cx. decens* sont positifs pour les oiseaux à une proportion de 55% et pour les chauves-souris à une proportion de 12%. *Cx. decens* a été aussi capturé sur homme à Madagascar (Fontenille 1989). *Cx. poicilipes* a été peu abondant dans les récoltes avec les pièges BG sentinel mais cette espèce a déjà été récoltée en grande abondance sur les oiseaux (Hamon *et al*. 1964) et *Cx. poicilipes* peut aussi piquer l'homme (Fontenille 1989). Après *Ad. madagascarica*, *Ma. uniformis* a été l'espèce la plus capturée avec les pièges BG sentinel. A Madagascar, *Ma. uniformis* a été récoltée sur homme de jour comme de nuit (Fontenille, 1989). En Afrique, un comportement zoo-anthropophile a été observée chez *Ma. uniformis* et cette espèce a été aussi récolté occasionnellement sur les oiseaux et les chauves-souris (Hamon *et al*. 1964).

Les autres espèces de moustiques qui ont été collectées dans les BG sentinel, *An. squamosus/cydipis, An. pharoensis, An. mascarensis, An. gambiae, An. funestus, Ae. tiptoni* et *Ae. albodorsalis*, ont été déjà trouvées attirés par l'homme (Fontenille, 1989). Ces observations montrent que ces espèces pourraient être en contact à la fois avec les oiseaux, réservoirs naturels du virus West Nile mais aussi en contact avec l'homme mais leur rôle dans la transmission du virus West Nile entre les oiseaux et l'homme est encore inconnue.

Discussion sur les matériels et méthodes

L'utilisation des deux types de méthodes de captures, pièges lumineux types CDC et Biogent Sentinel, ont permis d'évaluer la biodiversité culicidienne, la dynamique des populations de moustiques, la distribution et l'abondance des espèces de moustiques et l'attraction des oiseaux sur les espèces potentiellement vectrices du virus West Nile. Ces deux méthodes de

captures ont déjà montré leur efficacité dans l'échantillonnage des espèces de moustiques potentiellement vectrices du virus West Nile (Boyer *et al*. 2014). En outre, le piège lumineux type CDC permet d'avoir beaucoup d'informations sur la composition spécifique de la faune culicidienne (Joshi *et al*. 1975). Les pièges lumineux sont aussi utilisés dans l'étude de la dynamique des populations vectorielles (Faraj *et al*. 2009) mais aussi dans l'étude de la distribution spatiale des espèces de moustiques (Junglen *et al*. 2009).

Cependant notre étude est limitée à l'étude des moustiques nocturnes en général même si on s'était efforcé d'activer les pièges avant le coucher du soleil et ne nous a pas permis de faire une étude sur les espèces de moustiques à activités diurnes. L'estimation de l'attractivité des oiseaux domestiques n'est qu'approximative et nécessite d'autres techniques comme l'ELISA repas sanguin pour confirmer la préférence trophique des espèces de moustiques capturées avec les BG sentinel. De plus, trouver des poussins pour servir d'appâts dans les BG sentinel n'était pas chose aisée dans la zone d'étude ; ce qui a conduit au fait que les pièges BG sentinel n'ont pas été utilisés au mois d'Août faute d'appât.

V- Conclusions et perspectives

En conclusion, 10 espèces potentiellement vectrices du virus West Nile sont présentes autour du lac Kinkony. Ces espèces sont *Ad. madagascarica, An. coustani, An. maculipalpis, An. pauliani, Cx. antennatus, Cx. decens, Cx. tritaeniorhyncus, Cx. univittatus/neavei, Cx. poicilipes* et *Ma. uniformis*. L'espèce *Ad. madagascarica* a été la plus abondante. Cette espèce, appartenant à un genre connu pour être particulièrement ornithophile, présente un grand attrait envers les oiseaux domestiques. Abondance et comportement qui confèrent à *Ad. madagascarica* un statut de vecteur candidat du virus West Nile, en maintenant un cycle enzootique, autour du lac Kinkony pendant la saison sèche à Mitsinjo. Les 9 autres espèces potentiellement vectrices ont été peu abondantes ce qui implique que leur rôle dans la transmission du virus pourrait être nul ou faible.
Les résultats de cette étude ont ouvert de nouvelles perspectives de recherche qui comprend entre autres i) l'isolement du virus West Nile chez les espèces de moustiques capturées durant cette étude, ii) l'étude de la biologie, du comportement et de la préférence trophique du vecteur candidat *Ad. madagascarica*, et iv) l'étude de la compétence et de la capacité vectorielle de *Ad. madagascarica* dans le but de mieux comprendre la transmission vectorielle du virus West Nile dans les régions des grands lacs à Madagascar.

Bibliographie

1. Allan SA, Bernier UR, Kline DL, 2006. Laboratory Evaluation of Avian Odors for Mosquito (Diptera : Culicidae) Attraction. *J Med Entomol* 43(2):225-231.
2. Aubé-Maurice B, Gingars D, Labbé Y, 2005. Etude de l'impact stratégique du plan d'intervention gouvernemental de protection de la santé publique contre le virus du Nil occidental. Rapport sectoriel 1 : problématique du virus du Nil occidental. *Bibliothèque et Archives Nationales du Québec* 1-88.
3. Balenghien T, Fouque F, Sabatier P, Bicout DJ, 2007. Quels sont les vecteurs du virus West Nile dans le Sud de la France ? *Environnement, Risque et Santé*, 6 (6), 453-460.
4. Baqar S, Hayes CG, Murphy JR, Watts DM, 1993. Vertical transmission of West Nile virus by Culex and Aedes species Mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 48 (6): 757-762.
5. Basavaraju SV, Kuehnert MJ, Zaki SR, Sevjar JJ, 2014. Encephalitis caused by Pathogens transmitted through organ transplants, United States, 2002-2013. *Emerg Infect Dis* (20) No 9: 1443-1451.
6. Bernkopf H, Levine S, Nerson R, 1953. Isolation of West Nile virus in Israel. *J Infect Dis* 93: 207-218.
7. Biggerstaff B, Petersen LR, 2003. Estimated risk of transmission of the West Nile virus through blood transfusion in the US, 2002. *TRANSFUSION* 43: 1007-1017.
8. Boreham PFL, Snow WF, 1973. Further information on the food sources of *Culex (Culex) decens* Theo. (Dipt. Culicidae). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*., 67 (5): 724-725.
9. Boyer S, Tantely ML, Randriamaherijaona S, Andrianaivolambo L, Cardinale E, 2014. Mosquitoes sampling strategy for studying West Nile virus Vectors in Madagascar: Abundance, Distribution and Methods of catching in high Risk Areas. *Arch Inst Past Mad* 71 (1):1-4.
10. Briegel H, Waltert A, Kuhn R, 2001. Reproductive physiology of *Aedes (Aedimorphus) vexans* Diptera: Culicidae in relation to flight potential. *J Med Entomol* 38 (4): 557-565.
11. Brunhes J, Boussès P, Da Cunha Ramos H, 2011. Les Aedeomyia Theobald 1901, des régions afro-tropical et malgache (Diptera, Culicidae). *Bull Soc Entomol Fr* 116 :99-128.
12. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ, 2002. West Nile virus. *Lancet* 2 :519-529.

13. Charlwood JD, Kihonda S, Sama S, Billingsley PF, Hadji H, Verhave JP, Lyimo E, Luttikhuizen PC, Smith T, 1995. The rise and fall of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) in Tanzanian village. Bull. Entomol. Res. 85 : 37-44.
14. Clerc Y, Coulanges P, 1979. Rapport du laboratoire d'Arbovirus pour 1978. *Arch Inst Past Mad* 47 : 64-68.
15. Combes C, 2001. L'art d'être parasite, Flammarion, Paris, 1-362.
16. Cordellier R, Geoffroy B, 1976. Les moustiques de la République Centrafricaine. Travaux et Documents de l'O.R.S.T.O.M 112p. (Disponible sur http://www. mosquitocatalog.org).
17. Cornet A, 1974 : Essai de cartographie bioclimatique à Madagascar, carte à 1/2 000 000 et notice. Paris :Editions ORSTOM.
18. Crans WJ, 2004. A classification system for mosquito life cycles : life cycle types for mosquitoes of the northeastern United States. *J Vect Ecol* 29: 1-10.
19. da Cunha Ramos H, Brunhes J, 2004. Insecta, Diptera, Culicidae, *Uranotaenia*. *Faune de Madagascar 91, IRD Editions, CIRAD, Museum National d'Histoire Naturelle, 461p.*
20. Doucet JP, 1951. Moustique de la région de Périnet. *Mémoire de l'Institut Scientifique de Madagascar* 6 (1) : 63-82.
21. Faraj C, Adlaoui E, Ouahabi S, Rhajaoui M, Fontenille D, Lyagoubi M, 2009. Entomological investigations in the region of the last malaria focus in Morocco. *Acta tropica* 109: 70-73.
22. Fontenille D, 1989. Etude des circuits de vection d'arbovirus à Madagascar. *Arch Inst Past Mad* 55 : 11-317.
23. Fontenille D, Rodhain F, Digoutte JP, Mathiot C, Morvan J, Coulanges P, 1989. Les cycles de transmission du virus West Nile à Madagascar, Océan Indien. *Ann Soc Belge Méd Trop* 69 : 233-243.
24. Fontenille D, Mathiot C, Rodhain F, Maleyran, Rakotoarivony I, Digoutte JP, Coulanges P, 1988. Les arboviroses dans la région de Tsiroanomandidy, à Madagascar : Etudes entomologiques, virologiques et sérologiques. *Ann. Soc. belge Méd trop.*, 68 : 43-52.
25. Gillies MT, Wilkes TJ, 1974. The range of attraction of birds as baits for some West African mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Res* 63:573-581.
26. Grjebine A, 1966. Insectes Diptères Culicidae Anophelinae. *Arch Inst Past Mad* 22 : 1-487.

27. Grjebine A, 1953. Observations sur les nématocères vulnérants de Madagascar, Région de Mahajanga et de la Mandraka. *Mémoire de l'Institut Pasteur de Madagascar*, Série E 4 : 443-502.
28. Hamon J, Sales S, Coz J, Ouedraogo CS, Dyemkouma A, Diallo B, 1964. Observation sur les preferences alimentaires des moustiques de la République de Haute volta. *Bull Soc Pathol Exot 57* : 1133-1150.
29. Hubàlek Z, Halouzka J, 1999. West Nile Fever, a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 5: 643-650.
30. Jaccard P, 1901. Etude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et du Jura. *Impr*. Corbaz.
31. Johnson G, Panella N, Hale K, Komar N, 2010. Detection of West Nile Virus in Stable Flies (Diptera: Muscidae) Parasiting Juvenile American White Pelicans. *J Med Entomol* 47 (6): 1205-1211.
32. Joshi GP, Service MW, Pradhan GD, 1975. A survey of species A and B of the Anopheles gambiae Giles complex in the Kisumu area of Kenya prior to insecticidal spraying with OMS-43 fenitrothion. *Annales of Tropical Medicine and Parasitology* 69: 91-104.
33. Junglen S, Kurth A, Kuehl P, Quan L, Ellerbrok, Pauli G, Nitsche A, Nunn C, Rich SM, Lipkin WI, Briese T, Leendertz FH, 2009. Examining Landscape Factors influencing Relative Distribution of Mosquito Genera and Frequency of virus infection. *EcoHealth* 6: 239-249.
34. Jupp PG, 2005. Mosquitoes as vectors of human disease in South Africa. *SA Fam Pract* 47 (9) : 68-72.
35. Kramer LD, Styer LM, Ebel GD, 2008. A Global Perspective on the Epidemiology of West Nile Virus. *The Annual Review of Entomology* 53: 61-81.
36. Lanciotti R, Roerhig J, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, Crise B, Volpe K, Crabree M, Sherret J, 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 286: 23-33.
37. Larrieu S, Cardinale E, Ocquidant P, Roger M, Lepec R, Delatte H, Camuset G, Desprès P, Brottet E, Charlin C, Michault A, 2013. Case report: A fatal neuroinvasive West Nile virus infection in a traveler returning from Madagascar: clinical, epidemiological and veterinary investigations. *Am J Trop Med Hyg* 89: 211-213.

38. Longchampt C, Migliani R, Ratsitorahina M, Rabarijaona LP, Ramarokoto CE, Rakoto Andrianarivelo M, Rousset D, 2003. Persistance d'une circulation endémique du virus West Nile à Madagascar. *Arch Inst Past Mad* 69 : 33-36.
39. Martin-Acebes MA, Saiz JC, 2012. West Nile virus : A re-emerging pathogen revisisted. *World Journal of Virology* 1(2): 51-70.
40. Maquart M, Boyer S, Rakotoharinome VM, Ravaomanana J, Tantely ML, Cardinale E, Heraud JM. High Prevalence of West Nile virus in domestic bird and detection in 2 new potential mosquito vectors in Madagascar. *Soumis*
41. McGee CE, Schneider BS, Girard YA, Vanlandingham DL, Higgs S, 2007. Nonviremic Transmission of West Nile Virus: Evaluation of the effects of space, time, and Mosquito species. *Am J Trop Med Hyg* 76 (3): 424-430.
42. Mathiot CH, Clerc Y, Rodhain F, Digoutte JP, Coulanges P, 1983. Le virus West Nile et Madagascar. *Arch Inst Past Mad* 51: 113-124.
43. Miller BR, Nasci RS, Godsey MS, Savage HM, Lutwama JJ, Lanciotti RS, Peters CJ, 2000. First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley Province, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 62 (2): 240-246.
44. Morvan J, Chin L, Fontenille D, Rakotoarivony I, Coulanges P, 1991. Prévalence des anticorps anti-virus West Nile chez les jeunes de 5 à 20 ans à Madagascar. Bull Soc Pathol Exot 84 : 225-234.
45. Morvan J, Fontenille D, Lepers, Coulanges P, 1990. Surveillance sérologique de l'infection à virus West Nile dans un village des Hauts plateaux à Madagascar. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 70 : 55-63.
46. Mukhopadhyay S, Kuhn RJ, Rossmann MG, 2005. A Structural particles of virus life cycle. *Nature Reviews Microbiology* 3: 13-22.
47. Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'leary D, Murray K, Huang A, Rosenberg A, Greenberg A, Sherman M, Wong S, Layton M, 2001. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med* 344: 1807-1814.
48. Otlund EN, Crom RI, Pedersen DD, Johnson DJ, Williams WO, Schmitt BJ, 2001. Equine West Nile Encephalitis. United States. *Emerg Infect Dis* 7 (4) : 665-669.
49. Pesko KN, Ebel GD, 2012. West Nile virus population genetics and evolution. *Elsevier* 12 (2012): 181-190.

50. Philip CB, Smadel JE, 1943. Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medecine*. Society for Experimental Biology and Medecine (New York), 48: 537-548.
51. Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina OY, Tyutyunnik EN, Frolochkina TI, Lanciotti RS, Yazyshina S, Platonova OV, Obukhov IL, Zhukov AN, Vengerov YY, Pokrovskii VI, 2001. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis* 7 (1): 128-132.
52. R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/
53. Rickenbach A, Boreham PFL, Weitz B, Germain M, Eouzan JP, 1974. Etude des préférences trophiques des moustiques (Diptera, Culicidae) de la région de Yaoundé (Cameroun) par la méthode des tests de précipitines. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XII, n° 3 : 179-189.
54. Reinert JF, 2009. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). *European Mosquito Bulletin* 27: 68-76.
55. Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti R, Vladimirrescu A, Laiv L, Ungureanu A, Romanca C, Tsai TF, 1999. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61 (4): 600-611.
56. Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH, 1940. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 20: 471-492.
57. Tantely ML, Rakotondranaivo T, Boyer S, *Soumis*. Enzootic circulation of West Nile virus and risk of outbreak in Madagascar : Entomological point of view. Medical and Veterinary Entomology
58. Tantely ML, 2013. Biologie des moustiques vecteurs potentiels du virus de la fièvre de la vallée du Rift FVR à Madagascar. *Université d'Antananarivo* 1-211.
59. Traore-Lamizana M, Zeller HG, Mondo M, Hervy JP, Adam F, Digoutte JP, 1994. Isolations of West Nile and Bagaza Viruses from Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Central Senegal Ferlo. *J Med Entomol* 5: 934-938.
60. Walton WE, Workman PD, Tempelis CH, 1999. Dispersal, survivorship, and host selection of *Culex erythrothorax* Diptera: Culicidae associated with a constructed wetland in southern California. *J Med Entomol* 36: 30-40.

61. Whittaker RH, 1972. Evolution and measurement of species diversity. *Taxons* 21: 213-251.
62. Williams CR, Kokkin MJ, Smith BP, 2003. Intraspecific variation in odor-mediated host preference of the mosquito *Culex annulirostris*. *J Chem Ecol* 29: 1889-1903.
63. Zhang Y, Corver J, Pletnev SV, Sedlak D, Baker TS, Strauss JH, Kuhn RJ, Rossmann MG, 2003. Structure of immature flavivirus particles. *The European Molecular Biology Organization* vol. 22 No. 11: 2604-2613.

Webographie

1. http://www.r-project.org/
2. http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/
3. http://www.mosquitocatalog.org/
4. http://mobot.org/MOBOT/research/madagascar/maps/bc5tif.Jpg
5. http://fr.climate-data/location/30214

Annexe 1 : Articles et Communication orale.

Article accepté avec révision

Tantely Michael Luciano, **Tsiriniaina Rakotondranaivo**, Sébastien Boyer

Enzootic circulation of West Nile virus and risk of outbreak in Madagascar: Entomological point of view. Medical and Veterinary Entomology

Article en cours

Tantely Michael Luciano, **Tsiriniaina Rakotondranaivo**, Catherine Cetre-Sossah, Eric Cardinale, Sébastien Boyer.

Biology of *Aedeomyia madagascarica* that act as candidat vector of West Nile virus during dry season in sylvatic cycle of Madagascar.

Communication orale

Tantely Michael Luciano, **Tsiriniaina Rakotondranaivo**, Sanjiarizaha Randriamaherijaona, Lala Andrianaivolambo, Sébastien Boyer.

Moustiques anthropophiles: facteur de risque potentiel de la transmission du virus de la fièvre de la vallée du Rift (FVR) et de la fièvre du Nil Occidental (FNO) à l'homme à Madagascar.

Congrès de la Faculté de Médecine d'Antananarivo, 30 septembre au 02 octobre 2014, Centre de Conférence Internationale d'Ivato.

Annexe 2 : Description morphologique de l'espèce *Aedeomyia madagascarica* (Brhunes *et al*. 2011).

Aedeomyia (*Aedeomyia*) *madagascarica* n. sp.

La série typique a été récoltée par A. Grjebine les 28 et 29 août 1956, dans la station forestière d'Ivoloina (18°05 ; 49°22 ; altitude 22 m), province de Toamasina, Madagascar. Les captures ont été faites en début de nuit comme le mentionnent les étiquettes portées par chaque spécimen. Cette mention très précise de l'heure de capture (de 20h15 à 21h40) nous laisse à penser que cette série à été capturée sur appât humain car l'espèce n'est pas particulièrement attirée par les pièges lumineux. Elle comprend, en plus de l'holotype, 1 ♂ (T601) et 2 ♀ (T981 et T983) dont 1 aile et 3 pattes ont été montées à sec, 1 ♀ (n° 45) dont les genitalia sont montés ainsi que 5 ♀ non préparées. La nymphe et la larve de cette espèce sont inconnues.

HOLOTYPE : ♀, non préparé, 28.8.56, 21h40 (IRD, Montpellier).

PARATYPES : ♀, T981, 21h40 ; ♀, T983, 20h35 ; ♀, n°45 ; 5 ♀ non préparées et 1 ♂, T601. Six paratypes seront déposés à l'IRD, 1 femelle non préparée sera déposée à l'Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa (Lisbonne, Portugal) et deux femelles non préparées seront confiées au Natural History Museum, Londres, Royaume-Uni.

Derivatio nominis. – Nom en rapport avec l'endémicité malgache de l'espèce.

Description de la femelle holotype. – Fig. 3, 6, 9.

Tête. *Antennes* : des écailles claires sur tout le pédicelle et sur le scape ; quelques écailles sur la face interne du premier flagellomère (Flm1) ; flagellomères brun clair. *Clypeus* : tégument brun clair portant de nombreuses écailles claires. *Labium* arqué, couvert d'écailles sombres et orné de 2 anneaux blancs : le premier, large, en position médiane ; le second, beaucoup plus étroit, entoure l'apex du labium. Présence aussi de quelques écailles claires au niveau de l'apex des palpes maxillaires. Labelles brun sombre à la base et clairs à l'apex. *Palpes maxillaires* sombres portant des écailles claires à l'apex de chaque segment. *Vertex* sombre. Les rares écailles claires se trouvent sur le rebord oculaire où elles forment 2 taches blanches latérales et une autre entre les yeux ; absence de longues écailles blanches inter-oculaires ; de part et d'autre de la suture coronale (Cs) se dressent 2 touffes d'écailles fourchues sombres et claires ; les écailles claires, regroupées, sont placées devant les écailles noires et font suite aux écailles claires qui recouvrent la partie antérieure du vertex.

Thorax. *Scutum* recouvert d'écailles jaunâtres sur toute sa partie antérieure ; de telles écailles se retrouvent sur la base de l'aile. Le scutum porte aussi de nombreuses et longues soies latérales et postérieures. Soies acrosticales nettement plus courtes que les dorso-centrales. Entre la ligne acrosticale et la ligne dorso-centrale se développent 2 bandes d'écailles larges et jaunâtres bien rangées. Ces lignes vont de l'arrière du promontoire jusqu'aux 2/3 postérieurs du scutum. Les écailles qui forment ces 2 bandes divergent de 45° par rapport à la ligne acrosticale. Fossa portant 3 fortes soies antérieures ; partie antérieure couverte d'écailles jaunâtres et partie postérieure couverte d'écailles noires couchées. Cette tache sombre de la partie postérieure de la fossa est bien visible sur un scutum largement recouvert d'écailles claires. Dans la partie la plus postérieure de ces 2 bandes dorso-centrales, les écailles claires se redressent et forment, avec des écailles sombres plus postérieures, 2 petites touffes dressées analogues à celles portées par le vertex. Scutum ceinturé d'écailles marron foncé. Soies supra-alaires (SaS) nombreuses et fortes. Aire préscutellaire glabre mais bordée de quelques écailles blanches. Les soies préscutellaires (PrsS) et scutellaires médianes (MSS) sont longues et fortes. *Scutellum* : lobe médian brun sombre couvert d'écailles claires et portant 2 longues soies ; lobes latéraux couverts d'écailles claires à la base et noires au sommet ; chaque lobe latéral porte 3 ou 4 longues et fortes soies divergentes. Méso-posnotum (Mpn) brun sombre et glabre. *Côtés du thorax*. Tégument brun sombre sur lequel tranche de nombreuses taches d'écailles blanches bien différentes de celles, jaunâtres, du scutum. Des écailles blanches sur le post-pronotum (Pp), Ap, Pe ainsi que sur la face antérieure de Cx-I. De fortes et longues soies sur Ap et Pp. Aire post-spiraculaire dépourvue de soies mais portant, en position postérieure, une petite touffe d'écailles blanches ; paratergite réduit, sombre et glabre ; méskatépisternum (Mks) avec deux importantes taches inférieure et supérieure d'écailles claires (MScU et MScl). Présence aussi d'une large tache pré-alaire d'écailles claires qui fait suite à MScU. Mésanépimeron (Mam) avec une plage d'écailles claires sur la partie supérieure ainsi que de nombreuses et fortes soies. Métépisternum nu, brun, avec un liseré inférieur très clair. Spiracle postérieur aux bords très clairs. Métaméron avec une petite tache d'écailles blanchâtres presque reliée à l'abondante couverture d'écailles blanchâtres de Cx-III.

Ailes (fig. 3). Membrane alaire couverte de petits spicules. Costale et sous-costale recouvertes de petites écailles noires. Les écailles implantées sur les nervures longitudinales, moyennes et postérieurs, ne sont pas noires mais d'un brun sombre ; elles sont par ailleurs d'autant plus longues et larges qu'elles se trouvent en position plus postérieure. Les écailles portées par la 1A sont nettement plus longues que celles portées par les autres nervures. Bord antérieur des ailes marqué par 5 taches blanches : ainsi, sur la base de la costale, les petites taches basale (BP) et humérale (HP) sont présentes mais discrètes ; SP affecte la costale, la sous-costale et nettement R ; SCP est large et bien visible de la costale jusqu'à R4+5. A l'apex de l'aile, AP est nettement marquée, cette tache affecte classiquement C et R1 mais aussi R2 et R3. La tache jaunâtres caractéristique du groupe *africana* est ici présente mais peu importante ; les écailles jaunâtres sont mêlées à des écailles noires sur M. Par ailleurs, des taches d'écailles claires sont présentes sur les fourches de M1/M2 et CuA/mcu mais aussi sur R 4+5 et plus discrètement sur R3. Quelques écailles claires éparses sont présentes sur la plupart des nervures. Les écailles formant la frange alaire sont particulièrement longues de l'apex de 1A jusqu'à la base de l'aile. Des écailles alaires claires sont présentes à l'apex de toutes les nervures longitudinales sauf à l'apex de CuA. Quelques écailles sont présentes sur l'alula. L'originalité des ailes de *Ad. madagascarica* réside en particulier dans leur apex qui présente de nombreuses taches blanches, dans les écailles blanches de la frange alaire au niveau de M2 et enfin dans l'extrême réduction de la tache jaunâtre qui caractérise les membres du sous-genre *Aedeomyia*. *Haltères* : hampe brun clair et capitellum marron foncé.

Pattes (fig. 6). *Patte I* : fémur noir orné de nombreuses taches d'écailles claires ; face interne à dominante blanche ; apex portant quelques écailles ventrales longues et noires et des écailles longues blanches dans la partie apico-dorsale. Tibia I avec 4 anneaux plus ou moins complets ainsi que 2 taches d'écailles claires ; de rares écailles blanches à l'apex. Tarse : Ta-I_1 avec 2 anneaux blancs et apex blanc ; Ta-I_2 noir mais 1/3 basal blanc ; Ta-I_3 moitié basale claire et apex noir ; Ta-I_4 noir ; Ta-I_5 noir avec des écailles blanches sur la partie apico-dorsale. *Patte II* : fémur noir avec de nombreuses taches d'écailles claires ; à l'apex, les écailles longues, noires et divergentes, forment une grosse touffe ventrale ; des écailles longues et blanches sur la partie apico-dorsale. Tibia II noir avec 5 ou 6 anneaux blancs plus ou moins complets ainsi que de petites taches d'écailles blanches ; apex discrètement blanc. Tarse : Ta-II_1 noir avec la base et l'apex blancs, 2 taches blanches, parfois 3, sont aussi présentes. Ces taches n'entourent pas le segment. Ta-II_2 noir avec l'apex et la base blancs ; Ta-II_3 noir avec le tiers basal blanc ; Ta-II_4 moitié basale blanche et apex noir ; Ta-II_5 base noire et apex blanc. *Patte III* : fémur III plus noir que les fémurs I et II mais présence d'au moins 3 taches d'écailles blanches, les écailles apicales sont moins longues et moins nombreuses que sur le fémur II ; présence de quelques écailles longues et blanches sur l'angle apico-dorsal. Tibia III orné d'un mélange de plages noires, d'anneaux et de taches blanches. Tarse : Ta-III_1 noir avec base et apex blancs ainsi que 2 (rarement 3) taches blanches dorsales ; Ta-III_2 noir avec un large anneau blanc à la base et à l'apex ; Ta-III_3 moitié basale blanche et distale sombre ; quelques écailles blanches sont présentes à l'apex ; Ta-III_4 plus de la moitié basale blanche et apex noir ; Ta-III_5 entièrement blanc.

Abdomen. I-Te sombre avec quelques écailles claires sur son bord apical ; présence de longues soies latérales. II-Te à VI-Te recouverts d'écailles sombres couchées mais portant latéralement quelques écailles claires bien visibles sur les angles postérieurs. VII-Te avec, sur chaque côté, un triangle d'écailles claires dont la pointe atteint l'apex latéral du segment, il porte aussi quelques écailles claires sur le bord distal ainsi qu'un triangle d'écailles noires, légèrement redressées dont la base occupe la partie distale et dont la pointe atteint la partie basale du tergite ; ce triangle apparait plus sombre sur les côtés ; VIII-Te avec une bande d'écailles claires sur tout son bord distal, interrompue sur sa partie médiane par une tache d'écailles noires en relief. Ces 2 derniers segments apparaissent ainsi nettement plus clairs et plus ornementés que les segments antérieurs. Sternites I-S à V-S portant une bande apicale et une bande distale d'écailles claires ; ils apparaissent ainsi largement clairs ; VI-S ne portant qu'une bande basale blanche ; VII et VIII-S à dominante noire, présence seulement de quelques écailles claires latérales et distales.

Genitalia (fig. 9). Cerques courts, presque sphériques ; ils portent un revêtement de microtriches et quelques longues soies sur leur bord distal. Plaque post-génitale légèrement plus courte que les cerques et déprimée dans sa partie médio-distale ; elle est recouverte d'un revêtement de soies courtes et ses bords latéraux portent des soies plus longues, fines et souples ; sur le tiers distal sont implantées des soies fortes, les soies les plus distales sont aussi les plus longues et les plus épaisses. Une seule spermathèque bien sclérifiée, volumineuse ; son tégument est sombre et ponctué de petites taches claires. Tergite VIII développé, trapézoïde, avec, latéralement, de nombreuses écailles et longues soies. Sternite VIII recouvert de petites soies et d'écailles ; sur le bord postérieur sont implantées deux soies particulièrement longues.

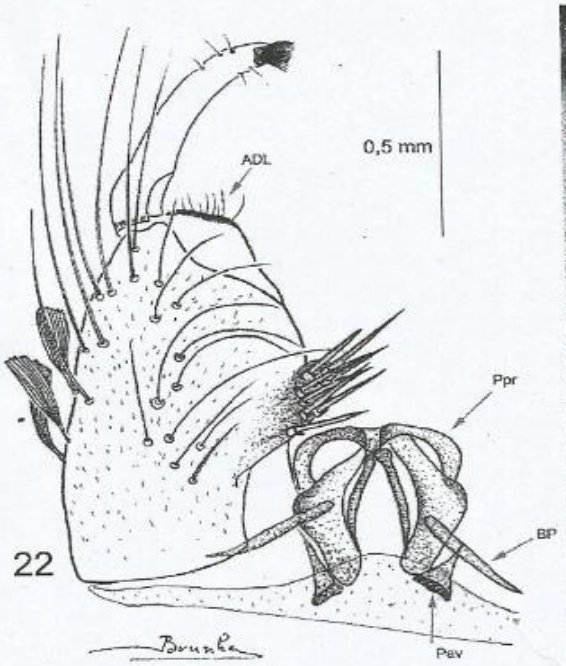
Description du mâle. – Morphologie similaire à celle de la femelle.

Tête. *Antennes* plumeuses, brunes, sensiblement plus courtes que la trompe ; flagellum formé de 15 flagellomères bien visibles avec des verticilles longs et bruns ; les 2 derniers segments sont un peu renflés, à peine plus longs que les autres. L'avant-dernier segment ne porte pas de touffes d'écailles. Torus brunâtre, recouvert de petites écailles blanchâtres couchées. Le premier flagellomère porte une touffe basale d'écailles sombres surmontée d'écailles blanches.

Thorax. *Ailes* : la tache SP est présente mais peu marquée ; la tache AP n'est présente que sur la costale.

Abdomen. Le seul mâle en notre possession a son abdomen coupé au niveau du 5^{e} segment car ses genitalia ont été préparés. Tergite I portant deux paires de très petites taches latérales d'écailles claires ; tergites II à V couverts d'écailles brun foncé mais présentant une étroite bande apicale d'écailles claires ainsi que des taches d'écailles claires sur les angles postérieurs.

Genitalia (fig. 22). Sternite IX très peu visible car il est peu sclérifié, il a la forme d'une bande transparente dont la partie médio-distale est renflée distalement. Gonocoxites massifs portant des écailles et de longues soies sur leur face externe ; sur leur face interne, présence d'un revêtement de soies courtes et de quelques longues soies disposées sans ordre ; un tubercule basal peu marqué porte 5 grosses soies et 3 plus petites ; la petite cupule d'insertion de chacune de ces soies présente une épine courte parallèle à la soie ; ébauche d'un lobe apico-dorsal (ADL) épaissi sur lequel sont implantées des soies courtes. Gonostyles cylindriques portant, dans leur moitié distale, 5 ou 6 soies sur leur face ventrale et 7 ou 8 sur leur face dorsale ; épine terminale des gonostyles analogue à un peigne court et arqué. Phallosome et proctiger constituent un bloc unique ; les paraproctes forment un capuchon au dessus du phallosome. Paramères bien visibles à la base du phallosome.



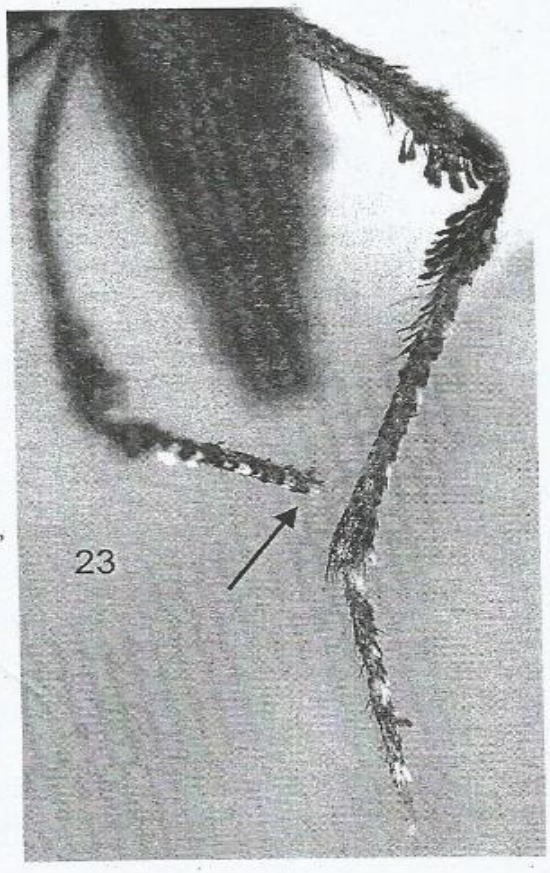
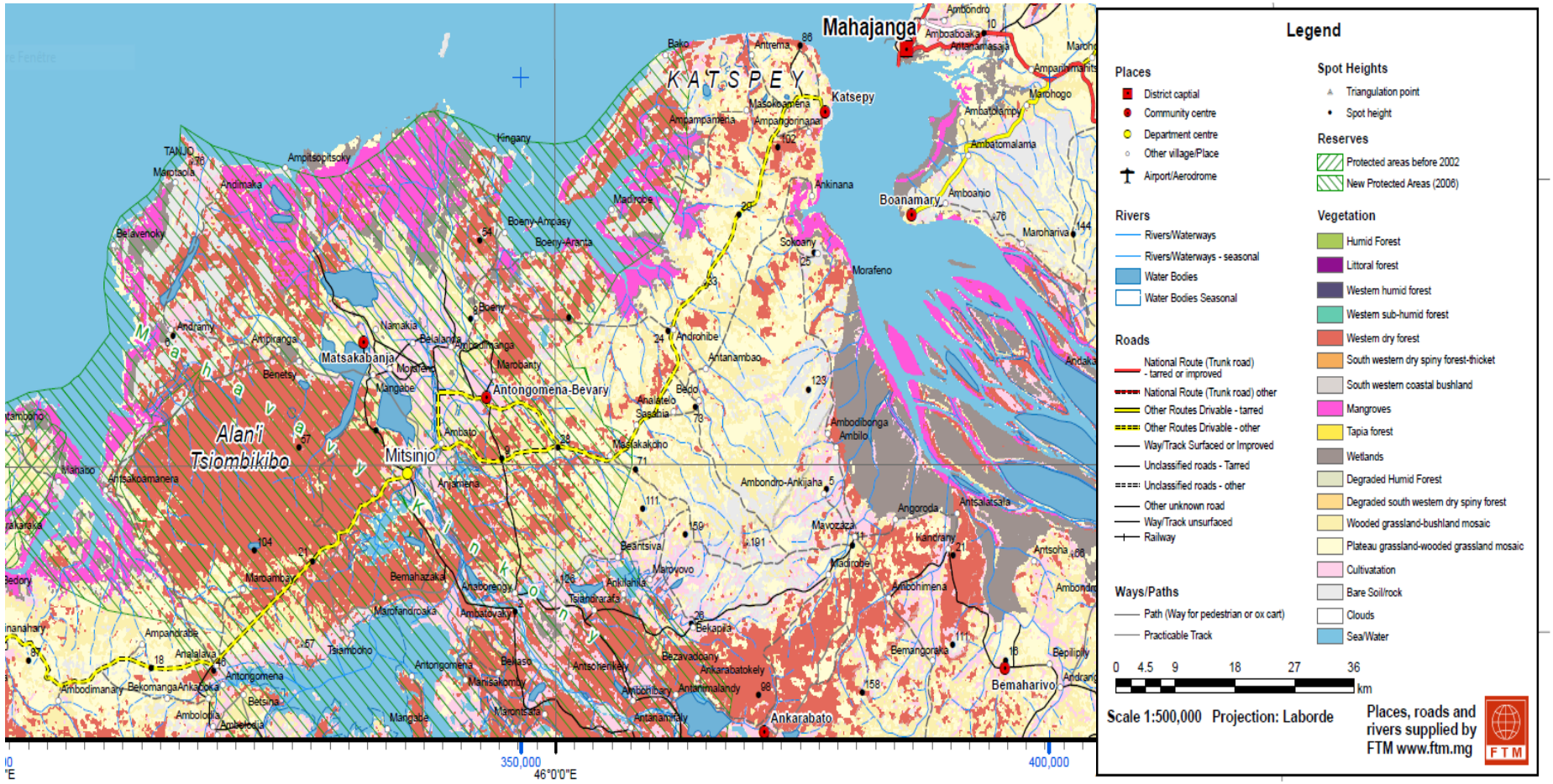


Fig. 22-23. – 22, *Aedeomyia* (*Aedeomyia*) *madagascarica* n. sp., genitalia du mâle. – 23, *Aedeomyia* (*Lepiothauma*) *furfurea* (Enderlein, 1923), patte III de l'holotype. Notez l'absence des quatre derniers segments du tarse III (flèche).

Annexe 3: carte présentant la végétation de la zone d'étude.



Title : A longitudinal survey of mosquitos potential vectors of West Nile virus in Mitsinjo.

ABSTRACT

In Madagascar, West Nile virus was first isolated in 1978 from Wild birds and the presence of West Nile virus has been reported in almost all regions of the island without any epidemic or epizootic period has been reported. However, the human case in a traveler returning from Madagascar shows that sporadic cases may exist but not reported. A good knowledge of potential vectors associated with arbovirus is needed to assess the risk of transmission of arboviruses. Therefore, this entomological survey was conducted to study the biodiversity, dynamics, distribution and attractiveness of domestic birds on the culicidae fauna around the lake Kinkony between February 2014 and December 2014. We captured 2416 adult mosquitoes divided into 24 different species. Ten species among the 24 species recorded in this study are associated with West Nile virus. These species are *Aedeomyia madagascarica, Anopheles coustani, Anopheles maculipalpis, Anopheles pauliani, Culex antennatus, Culex decens, Culex univittatus/neavei, Culex tritaeniorhyncus, Culex poicilipes* and *Mansonia uniformis*. *Aedeomyia madagascarica* was the most abundant species during the dry season while the abundance was low for all species observed. Thirteen species of mosquitoes were collected in the BG sentinel traps, 6 of wich are potential vectors of West Nile virus, among them, *Aedeomyia madagascarica* was captured in high proportion. These results give to the species *Aedeomyia madagascarica* a candidate vector of West Nile virus status around the Kinkony lake during dry season.

Keys words : West Nile virus, mosquitoes, survey, Mitsinjo, potential vectors.

Titre : Suivi longitudinal des moustiques vecteurs potentiels du virus West Nile à Mitsinjo.

RESUME

A Madagascar, le virus West Nile a été isolé pour la première fois en 1978 à partir d'oiseaux sauvages. Et depuis, la présence du virus West Nile a été signalée dans presque toutes les régions de l'île sans qu'aucune période épidémique et/ou épizootique n'ait été signalée. Toutefois, le cas humain d'un voyageur revenant de Madagascar dont l'issue a été fatal montre que des cas sporadiques pourraient exister mais non rapporté. Une bonne connaissance sur les vecteurs potentiels associés aux arbovirus est nécessaire pour évaluer les risques de transmission des arboviroses. De ce fait, cette étude entomologique a été menée pour étudier la biodiversité, la dynamique, la distribution et l'attractivité des oiseaux domestiques sur la faune culicidienne autour du lac Kinkony entre Février 2014 et Novembre 2014. Nous avons capturé 2416 moustiques adultes répartis en 24 espèces différentes. Dix espèces parmi les 24 espèces inventoriées durant cette étude sont associées au virus West Nile. Ces espèces sont *Aedeomyia madagascarica, Anopheles coustani, Anopheles maculipalpis, Anopheles pauliani, Culex antennatus, Culex. decens, Culex univittatus/neavei, Culex tritaeniorhyncus, Culex poicilipes* et *Mansonia uniformis*. L'espèce *Aedeomyia madagascarica* a été la plus abondante durant la saison sèche tandis que l'abondance a été faible pour les autres espèces. Durant la saison des pluies, la densité relative a été faible pour l'ensemble des espèces observées. Treize espèces de moustiques ont été collectées dans les pièges BG sentinel, dont 6 sont potentiellement vectrices du virus West Nile, parmi celles-ci, *Aedeomyia madagascarica* a été capturée en forte proportion. Ces résultats confèrent à l'espèce *Aedeomyia madagascarica* un statut de vecteur candidat du virus West Nile autour du lac Kinkony durant la saison sèche.

Mots clés : virus West Nile, moustiques, suivi, Mitsinjo, vecteurs potentiels.

Encadreur :

Pr RAZAFINDRASATA Fidimanana

Professeur titulaire

Département d'Entomologie

Université d'Antananarivo

Co-encadreur :

Dr TANTELY Michael Luciano

PhD

Unité d'Entomologie Médicale,

Institut Pasteur de Madagascar

Impétrant :

RAKOTONDRANAIVO Tsiriniaina

Tel : (+261)348649232

(+261)336778071

Mail : tsiryrakoto22@gmail.com