

**UNIVERSITE DES SCIENCES
DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO**

République du Mali



U.S.T.T.B

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

N° _____ /

THESE

**Suivi de la transmission vectorielle du
paludisme dans un village sahélien de 2012 à
2016 au Mali**

**Présentée et soutenue publiquement le/...../2019 devant la
Faculté de Pharmacie**

Par M. Ousmane YOSSI

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Pr Amadou DIALLO

Membres : Dr Nafomon SOGOBA

Dr Mamadou B COULIBALY

Co-directeur: Dr Adama DAO

Directeur : Pr Sékou Fantamady TRAORE

Ce travail, réalisé au Malaria Research and Training Center de la Faculté de Pharmacie (MRTC/FAPH) a bénéficié de l'appui financier du gouvernement américain à travers le LMVR/NIH/NIAID-USA

DEDICACE

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mon cher et regretté père Diakaridia **YOSSI**, ton départ prématuré nous a laissé des souvenirs inoubliables, tu as eu le courage de nous amener à l'école pour que nous puissions devenir des responsables un jour, tu as tout fait pour que nous réussissions dans ce monde, tu nous as toujours conseillé dans le travail et à prendre du courage, saches que tu es toujours présent pour moi par la pensée et que mon plus grand regret dans la vie est que tu ne sois pas là en ce jour où se concrétise ton espoir de me voir devenir pharmacien. Trouves ici cher papa l'expression de ma plus profonde gratitude.

Dors en paix cher PAPA Amen !!!!!!!

REMERCIEMENTS

Remerciements

Je tiens à remercier le tout puissant **ALLAH**, l'omnipotent, le tout miséricordieux, maître de la terre et des cieux de m'avoir donné la santé et le courage pour que je puisse venir à bout de ce travail. Que ta bénédiction nous accompagne.

Mes sincères remerciements au prophète **Mohamed** (PSL) et à ses khalifes, que la bénédiction d'Allah soit sur eux.

Ma reconnaissance va à l'endroit de mon pays le Mali, terre d'accueil, de prospérité et à ses autorités pour les soins qu'ils m'ont offert et d'avoir rendu l'enseignement gratuit.

Mes plus profonds remerciements vont à ma maman Kadidia **YOSSI**, tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte, ni la profonde gratitude que je te témoigne pour les efforts et les sacrifices que tu n'as jamais cessé de consentir pour mon bien-être, tes encouragements et tes bénédictions m'ont toujours servi. J'espère avoir répondu aux espoirs que tu as fondé en moi ;

Que le tout puissant t'accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Une mention spéciale au Docteur Adama **DAO**, chef d'unité de Molecular Ecology de m'avoir donné l'occasion de faire mes travaux de thèse dans son unité, votre admiration, votre endurance, votre sens élevé de responsabilité et votre rigueur dans le travail font de vous un chercheur modeste ; Avec tout mon estime affection et respect je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Mes vifs remerciements au Docteur Alpha Seydou **YARO**, j'ai trouvé en vous toutes les qualités d'un chercheur, votre abord facile, votre simplicité, votre amour envers les autres et surtout vos conseils sur le terrain m'ont beaucoup servi ; J'implore Allah qu'il vous donne une longue vie pleine de succès et de bonheur.

Mes chaleureux remerciements à monsieur Moussa **DIALLO** pour son esprit de partage, vos critiques et suggestions, votre disponibilité lors de la réalisation de ce travail, durant tout ce temps vos conseils m'ont beaucoup soutenus, et j'ai beaucoup appris à vos côtés. Je vous adresse toute ma reconnaissance et je vous souhaite une bonne carrière professionnelle.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Docteur Djibril **SAMAKE** pour sa gentillesse et sa patience qu'il a manifestée à mon égard durant cette thèse ainsi que ses conseils.

Je tiens tout particulièrement à remercier monsieur Zana Lamissa **SANOGO** pour son encouragement et ses conseils lors de la réalisation de ce travail.

J'en remercie le Docteur Tovi **Lehmann** et ses différents *post-doc* d'avoir été l'initiateur de ce projet et pour leur soutien moral. Toute ma reconnaissance à l'endroit du LMVR/NIH pour

le soutien financier de cette étude. Chers collaborateurs, votre endurance, votre amour pour le travail bien fait et votre esprit de partage ont fait de vous des chercheurs de renommée internationale. Vive la coopération LMVR/NIH-MRTC ICER Mali.

J'ai également une pensée pour mes oncles Oumar **YOSSI** et feu Chaka **YOSSI** pour leurs soutiens sans cesse, un grand merci.

Mes remerciements les plus profonds vont à l'endroit du Docteur Fatoumata **BALLO** pour son soutien inlassable à la réalisation de ce travail, trouvez ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

Mes remerciements à ma fiancée Mata **Yossi** pour les moments difficiles qui nous avons passés ensemble depuis notre relation, tu as été et tu resteras pour moi une compagne confidente.

Je remercie les familles **YOSSI** de Séhè et en particulier mes frères Seydou, Souleymane, Madou et mes sœurs Fatoumata, Chata pour leurs apports économique et moral.

Merci aux familles **Yossi** de Banconi Kènèbani et de Banconi Djanguinébouyou.

Je remercie également mes cousins Madou **YOSSI**, Daouda **YOSSI**, Aziz **YOSSI**, Amadou **YOSSI** et mes cousines Fatoumata **YOSSI**, Sira **YOSSI**, Aïchata **YOSSI**, Maï **YOSSI**, Rokia **YOSSI**, Oumou **YOSSI** et feu Adama **YOSSI** pour leur courtoisie.

Un grand merci à mes tantes Diaha **KONATE**, Kadiatou **YOSSI**, feue Aïssata **YOSSI** et feue Aminata **COULIBALY** pour leur hébergement.

Je remercie l'interne Sidiki **PEROU** pour le soutien pendant les moments difficiles que nous avons traversés ensemble depuis le lycée, plus qu'un ami tu as été et tu resteras un frère pour moi.

Je tiens à remercier tous les amis et camarades de la 8^e promotion du *numerus clausus* de la section pharmacie et en particuliers Seydou **DOUYON**, Noé **SAYE**, Abdoulaye **KEITA**, Balla **DIARRA**, Talata **THIENTA** pour les moments difficiles que nous avons passés ensemble à la faculté.

Une pensée amicale à tous mes amis d'enfance pour notre franche collaboration.

Merci à tout le personnel du département entomologie du *MRTC* : Dr Richard K **SAKAI**, Professeur Sékou Fantamady **TRAORE**, Docteur Nanfomon **SOGOBA**, Docteur Mamadou **COULIBALY**, monsieur Moussa **KEITA**, monsieur Boubacar **COULIBALY**, monsieur Adama **SACKO**, monsieur Aboubacar **FOFANA**, monsieur Lakami **SYLLA**, monsieur Cheick Oumar **CAMARA**, Docteur Bourema **DIALLO**, Docteur Amadou **GUINDO** pour leur convivialité.

Merci à monsieur Souleymane **Karembé**, monsieur Bakary **Coulibaly** et le personnel de **G4S**.

Un grand merci à tous mes camarades thésards en entomologie : Docteur Issa **TRAORE**, Docteur Sidiki **KAMISSOKO**, Docteur Abdoulaye **KEITA**, Docteur Daouda **NIARE**, Docteur Aboubacar Sadick **KONE**, Docteur Fousseny **KANE**, Docteur Boïssé **TRAORE**, Habibatou **CAMARA**, Elhadji **MAIGA**, Abdoulaye **KONE**, Abdoulaye **DAO**, Ladjji **SACKO**, Salif **THIAM** et Mohamed **MAIGA**.

Je tiens à remercier les populations de Thierola et de Ballabougou, en particulier nos guides Sory **THIERO**, Magan **DIARRA**, Moussa **TRAORE** et tous les autres guides et captureurs de l'ensemble de nos sites d'étude.

Mes chaleureux remerciements aux missionnaires de Ségué et de Bandiagara pour leur accueil.

Merci aux familles **SOMBORO**, **ARAMA** de Ségué, de Sama et de Bandiagara pour leur accueil.

Un grand merci à tout le personnel d'*ICER* Mali, je garderai un grand souvenir de leur pars.

Je ne saurais oublier les vigils du *MRTC* pour leur courage et leur endurance.

Mes sincères remerciements à tous mes enseignants du premier cycle jusqu'à la faculté.

Merci à tout le personnel de la pharmacie **Nonkon Koroya** de Banconi plateau.

Enfin ces remerciements ne seraient pas complets sans mentionner l'apport des chauffeurs : Madou **DIALLO**, Moumini **DIALLO**, Abdallah **SISSAKO**, Abdoulaye **COULIBALY**, Karim **TOURE**, Balla **KEITA**, Youssouf **DOUMBIA**, Djigui **FOMBA**, Yoro **SIDIBE**, Ousmane **THIAM** et Moro **DIAKITE**.

**HOMMAGE AUX
MEMBRES DU JURY**

Hommage aux membres du jury

A notre maître et président du jury

Professeur Amadou Diallo

- **Professeur en biologie et zoologie à la FMPOS.**
- **Recteur honoraire de l'université de Bamako**

Cher Maître

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider cette thèse malgré vos multiples occupations.

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre humilité et votre souci du travail bien fait sont autant des qualités qui forcent l'admiration.

Hommage respectueux.

A notre maître et juge

Docteur Nafomon SOGOBA

- **PhD en épidémiologie,**
- **Responsable des unités épidémiologiques/GIS/RS et acarologie du MRTC**

Cher Maître

C'est pour nous un grand honneur que vous acceptiez de siéger parmi notre honorable jury.

Vos qualités professionnelles, humaines, et votre ouverture d'esprit font de vous un maître apprécié de tous.

Permettez-nous de vous exprimer notre gratitude et nos remerciements les plus sincères.

A notre Maître et juge

Docteur Mamadou B. COULIBALY

- **Docteur en Pharmacie, PhD en sciences biologiques,**
- **chef de l'unité génomiques et protéomique du MRTC.**

Cher Maître, nous avons été très honorés d'avoir fait votre connaissance.

Vos qualités intellectuelles, humaines, votre simplicité et votre ouverture d'esprit font de vous un être apprécié de tous.

Trouvez ici cher Maître le témoignage de notre profond respect.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Docteur Adama DAO

- **PhD en Entomologie Médicale,**
- **Chef de l'unité d'écologie moléculaire des vecteurs à l'ICER/Mali**

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail. Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de cette thèse. Votre honnêteté intellectuelle, votre grand abord facile ont satisfaits notre admiration. Nous sommes très fiers et très honorés d'être comptés parmi vos disciples.

Cher maître c'est un immense plaisir de vous manifester ici, solennellement notre profonde gratitude et nos sincères remerciements.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Sékou Fantamady Traoré

- **PhD en Entomologie médicale**
- **Professeur de Génétique et de biologie cellulaire,**
- **Co-directeur du MRTC**

Cher maître

La bienvenue et la simplicité par laquelle vous nous avez accueilli nous ont beaucoup ému. Nous avons bénéficié dès le début de notre cursus universitaire, de votre enseignement de qualité, ce qui a engendré notre estime pour vous. Nous vous sommes redevables de l'aboutissement de ce travail.

Nous vous prions cher maître d'accepter l'expression de notre haute considération et de notre profond attachement.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABREVIATIONS

ACT = Combinaison Thérapeutique à base d'Artemisine

ADN = Acide désoxyribonucléique

An = Anopheles

An. fun = *Anopheles funestus*

An. gamb = *Anopheles gambiae*

AR = *arabiensis*

BB = Blocking Buffer

Bp = paire de base

Bti = *Bacillus thurigiensis israelensis*

c/g = coluzzii / gambiae

CSP = Circum Sporozoite Protein

°C = degré Celsius

DNTPs = désoxyNucléotide Triphosphates

ELISA = Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay

FAPH = Faculté de Pharmacie

Fréq = Fréquence

GIS = Geographical Information System

g = gramme

IAS = Indice d'Antigène Sporozoïtique

Jan = Janvier

Juil = Juillet

Km = Kilomètre

L1, L2, L3, L4 = stades larvaires (larve de stade 1, 2, 3, et 4)

long = longueur

Mgcl2 = chlorure de magnésium

M = *Anopheles coluzzii*

MRTC = Malaria Research and Training Center (Centre de formation et de la recherche sur le paludisme)

ml = millilitre

mm = millimètre

mn = minute

Nbre = Nombre

N = Normalité

Nov = Novembre

OMS = Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organization =WHO)

PBS = Phosphate Buffered Saline

PCR= Réaction de polymérisation en chaîne

pH = potentiel Hydrogène

PNLP= Programme National de Lutte contre le Paludisme

% = Pourcentage

R.S = Remong Sensung

S = *Anopheles gambiae*

s.s = *sensu stricto*

s.l = *Sensu lato*

Sept = Septembre

UN = Universel

NP-40 = Nonidet-P40

µl = microlitre

UV = Ultraviolet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte mondiale des espèces vectrices dominantes du paludisme.....8

Figure 2 : Les principaux stades de digestion du sang et de maturation des ovaires, (DETINOVA, 1962)13

Figure 3 : Cycle biologique de l’anophèle.....15

Figure 4 : Cycle biologique des Plasmodies (Source : CDC Atlanta).....16

Figure 5 : Carte du Mali montrant la région de Koulikoro et la position du site d’étude22

Figure 6 : Variation mensuelle des densités moyennes par case d’An. gambiae s.l et de la pluviométrie à Ballabougou de 2012 à 2016.27

Figure 7 : Fréquences relatives des espèces d’An. gambiae s.l à Ballabougou de 2012 à 2016.....30

Figure 8 : Taux d’infection d’Anopheles gambiae s.l à Ballabougou de 2012 à 2016.....32

Figure 9 : Pourcentage des espèces d’An. gambiae infectées à Ballabougou pendant les cinq années (2012 à 2016).....37

Figure 10 : *Plaque d’ELISA montrant les puits positifs et négatifs.*50

Figure 11 : Photo d’un gel après migration56

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Fréquence des espèces d'An. gambiae s.l et d'An. funestus à Ballabougou de 2012 à 201629

Tableau II : Composition des espèces d'An. gambiae s.l pendant les différentes périodes à Ballabougou de 2012 à 201631

Tableau III : Taux d'infection des espèces d'An. gambiae s.l à Ballabougou de 2012 à 201633

Tableau IV : Taux d'infection des espèces d'An. gambiae s.l à Ballabougou de 2012 à 2016.....34

Tableau V : Taux d'infection des différentes espèces d'Anopheles gambiae s.l à Ballabougou pendant les différentes périodes de 2012 à 201636

Tableau VI : Préparation de mixture d'identification des espèces A & B.53

Tableau VII : Dilution de l'Enzyme Hha1 pour une réaction de digestion (Fanello et al., 2002).54

TABLE DES MATIERES

Table des matières

1. Introduction	2
2. Objectifs	5
2.1. Objectif général	5
2.2. Objectifs spécifiques	5
3. Généralités	7
3.1. Le vecteur	7
3.1.1. Taxonomie et répartition géographique	7
3.1.2. Bio-Écologie des anophèles	9
3.1.3. Accouplement et fécondation	11
3.1.4. Choix de l'hôte et alimentation	12
3.1.5. Lieu de repos	12
3.1.6. Digestion et maturation des œufs	12
3.1.7. Vol et dispersion	13
3.1.8. Longévité	14
3.1.9. Les Cycles du vecteur	14
3.2. Le Parasite	15
3.2.1. Systématique	15
3.1.2. Cycle biologique	15
3.3. Méthodes de lutte contre le paludisme	16
3.3.1. Lutte anti vectorielle	16
3.3.2. Lutte antiparasitaire	19
3.4. Considérations éthiques	19
4. Méthodologie	21
4.1. Lieu et période d'étude	21
4.1.1. Description du lieu d'étude	21
4.2. Collecte des données	24

4.2.1. Capture des moustiques	24
4.2.2. Traitement des moustiques collectés au laboratoire	25
4.4. Saisie et analyse des données	25
5. Résultats	27
5.1. Variations temporelles des densités d' <i>An. gambiae</i> s.l et de la pluviométrie	27
5.2. Composition vectorielle	29
5.2.1. Espèces vectrices rencontrées	29
5.2.2. Composition spécifique d' <i>An. gambiae</i> s.l	30
5.2.3. Composition de la population d' <i>An. gambiae</i> s.l pendant les différentes périodes	31
5.3. Détermination des taux d'infection	32
5.3.1. Taux d'infection d' <i>An. gambiae</i> s.l	32
5.3.2. Taux d'infection des espèces d' <i>An. gambiae</i> s.l	33
5.3.3. Taux d'infection des espèces d' <i>An. gambiae</i> s.l pendant les différentes années	34
5.3.4. Taux d'infection des espèces d' <i>An. gambiae</i> s.l pendant les différentes périodes	36
5.3.5. Contribution des différentes espèces d' <i>An. gambiae</i> s.l dans la transmission	37
6.1. Densité des vecteurs	39
6.2. Composition des moustiques vecteurs capturés	40
6.3. Infection des moustiques	41
7. Conclusion	43
8. Bibliographie	45
9. Annexes	49

INTRODUCTION

1. Introduction

Le paludisme, endémie parasitaire majeure, est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*. Il est transmis à l'homme par la piqûre infectante de l'anophèle femelle.

Dans le monde 59 habitants sur 1000 demeurent toujours exposés au risque d'infection palustre.

En 2017, les statistiques sanitaires font état de 219 millions de cas d'épisodes palustres, dont 92% dans la région Africaine de l'OMS, soit 200 millions de cas. Le nombre de décès est estimé à 435000 dont 93% en Afrique. A l'échelle mondiale, 63% des décès liés au paludisme surviennent chez les enfants de moins de 5 ans (OMS 2018).

Au Mali, comme dans la plupart des pays au sud du Sahara, le paludisme demeure l'endémie majeure et la première cause de morbidité et de mortalité dans les groupes les plus vulnérables, notamment les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes. Il représente 32% des motifs de consultation avec 2 097797 cas de paludisme dont 673574 cas graves et 1050 décès (PNLP 2018).

La transmission des espèces plasmodiales à l'homme est assurée par plus de 60 espèces d'anophèles à travers le monde (Fontenille *et al.*, 2005). Parmi celles-ci, seulement quinze assurent l'essentiel de la transmission (vecteurs majeurs). En Afrique, la transmission est majoritairement assurée par *An. gambiae* s.l, *An. funestus*, *An. nili* et *An. moucheti*. Parmi ces espèces, les membres du complexe *An. gambiae* s.l (*An. coluzzii* et *An. gambiae* et *An. arabiensis* et le groupe *An. funestus* sont les vecteurs les plus répandus (Coetzee *et al.*, 2013), les plus anthropophiles et les plus efficaces dans la transmission .

Au Mali les principaux vecteurs sont *An. gambiae*, *An arabiensis*, *An coluzzii* et *An. funestus*, (Touré Y, 1979). *An. gambiae* (forme moléculaire S) s'observe essentiellement en saison de pluies et en savane sud-soudanienne le long des cours d'eau, alors qu'*An. coluzzii* (forme moléculaire M) se rencontre aussi bien en saison de pluies qu'en saison sèche et presque partout dans le pays et *An arabiensis* dans les zones sahéliennes (Touré *et al.*, 1994).

Dans le monde cinq espèces de *Plasmodium* sont inféodées à l'homme: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, et *Plasmodium*

knowlesi (Bronner U et al., 2009). *Plasmodium falciparum*, l'espèce responsable des formes graves et mortelles, est la plus répandue en Afrique avec 99,7% de cas (OMS 2018).

Au Mali les quatre espèces (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium vivax*) sont présentes avec des fréquences différentes. *Plasmodium falciparum* seul est responsable de 86,1 à 94,9% de toutes les infections paludéennes (Dumbo, 1992 ; Dolo A et al., 2003). La transmission est saisonnière longue de 4 à 6 mois en zone soudanienne 3 à 4 mois en zone nord-soudanienne et sahélienne, et sporadique en zone saharienne. Les taux d'infection les plus élevés chez les moustiques s'observent en fin de saison des pluies (septembre à octobre : Bagayoko 2000, Sangaré 2000, Dao 2005, Govoetchan et al. 2014, Yaro 2014). En saison sèche, la transmission est presque indétectable dans les zones situées loin des cours d'eaux. En zones de riziculture où la productivité larvaire est surtout liée au calendrier d'irrigation des parcelles plutôt qu'à la pluie, la transmission est pérenne.

A la fin de la saison des pluies, le tarissement rapide des gîtes larvaires est très marqué en zone sahélienne entraînant une diminution considérable des densités des vecteurs du paludisme. Cependant, certains adultes persistent tout au long de la saison sèche (7 à 8 mois au sahel) comme démontré par Lehmann et al, 2010. La zone est aussitôt recolonisée quelques semaines seulement après les premières pluies. Cette recolonisation est certainement due aux adultes ayant survécus toute la saison sèche et/ou au retour de ceux qui avaient déserté les lieux pendant la période défavorable pour se cantonner le long des cours d'eau (Sogoba et al, 2007). La transmission s'installe progressivement durant la saison pluvieuse pour atteindre son pic vers la fin. La reprise de la transmission aussitôt après l'installation de la saison de pluies serait-elle due au réservoir humain des parasites où par les anophèles adultes persistants où cantonnés le long des cours d'eau pendant la saison sèche ? Si la contribution du réservoir humain à la reprise de la transmission est généralement admise, il n'en est pas de même pour les moustiques ayant survécu toute la saison sèche. Le but de ce travail est de déterminer le niveau de transmission vectorielle du paludisme au cours de l'année enfin de comprendre l'implication des anophèles de la saison sèche dans le maintien de la transmission du paludisme pendant l'arrivée de la saison de pluies en zone sahélienne.

OBJECTIFS

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Déterminer le rôle des espèces d'*Anopheles gambiae* s.l. dans la transmission du paludisme pendant les différentes périodes en zone sahélienne du Mali.

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer les variations temporelles de la densité d'*An. gambiae* s.l dans un village situé en zone sahélienne du Mali (de 2012 à 2016).
- Déterminer la composition spécifique mensuelle du complexe *An gambiae* dans un village situé en zone sahélienne du Mali (de 2012 à 2016).
- Déterminer le taux d'infection mensuel des espèces d'*An. gambiae* s.l dans un village situé en zone sahélienne du Mali (de 2012 à 2016).

GENERALITES

3. Généralités

3.1. Le vecteur

3.1.1. Taxonomie et répartition géographique :

Les anophèles appartiennent au règne animal, à l'embranchement des Arthropodes; à la classe des Insectes; ordre des Diptères; famille des Culicidae ; Sous-famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles*.

Parmi plus de 3400 espèces de moustiques répertoriées dans le monde, le genre *Anopheles* avec près de 500 espèces (Harbach, 2004), est plus connu pour son implication dans la transmission du paludisme et est présent dans les régions tempérées comme tropicales, sauf dans certaines îles, comme le Groenland, l'Islande, les Seychelles, la Nouvelle-Calédonie et les îles de Polynésie de l'Est et centrale (Mouchet et al., 2004). Parmi ces 500 espèces d'anophèles, 41 sont considérées comme des vecteurs ayant un impact majeur en santé publique (Hay et al., 2010).

An. gambiae s.l est globalement responsable de la plupart de la transmission du paludisme dans la zone intertropicale africaine.

Au Mali, la transmission est majoritairement assurée par *Anopheles gambiae* s.l et secondairement par *Anopheles funestus*.

❖ Le complexe *Anopheles gambiae*

Ce complexe est un ensemble d'espèces génétiquement différentes, non interfécondes dans la nature, mais identiques morphologiquement. Ce groupe comprend neuf espèces à savoir :

- *An. amharicus* Hunt et al, 2013.
- *An. arabiensis* Patton, 1905.
- *An. bwambae* Blanc, 1985.
- *An. gambiae* Giles, 1902.
- *An. coluzzii* Coetzee et Wikerson, 2013.
- *An. melas* Theobald, 1903.
- *An. comorensis* Bruhnes, 1997.
- *An. merus* Dönitz, 1902.
- *An. Quadriannulatus*, Theobald 1911

❖ **Le groupe *Anopheles funestus***

Ce groupe est un ensemble d'espèces très proches morphologiquement mais qui présentent de petites différences à un stade au moins de leur développement. Les espèces de ce groupe sont mal connues et peu étudiées. IL comprend *An.funestus stricto sensu*, *An. confusus*, *An. lesoni*, *An. rivulorum*, *An. rivulorum- like*, *An. brucei*, *An. parensis*, *An. aruni* et *An. vaneedeni*. Parmi une dizaine d'espèces décrites seul *An. funestus stricto sensu* est réellement vecteur de *Plasmodium*. Quant aux autres, elles ne sont généralement pas anthropophiles (Coetzee M and Fontenille D., 2004). Par contre *An. rivulorum* a été retrouvé porteur de *Plasmodium* en Tanzanie (Wilkes TJ et al., 1996).

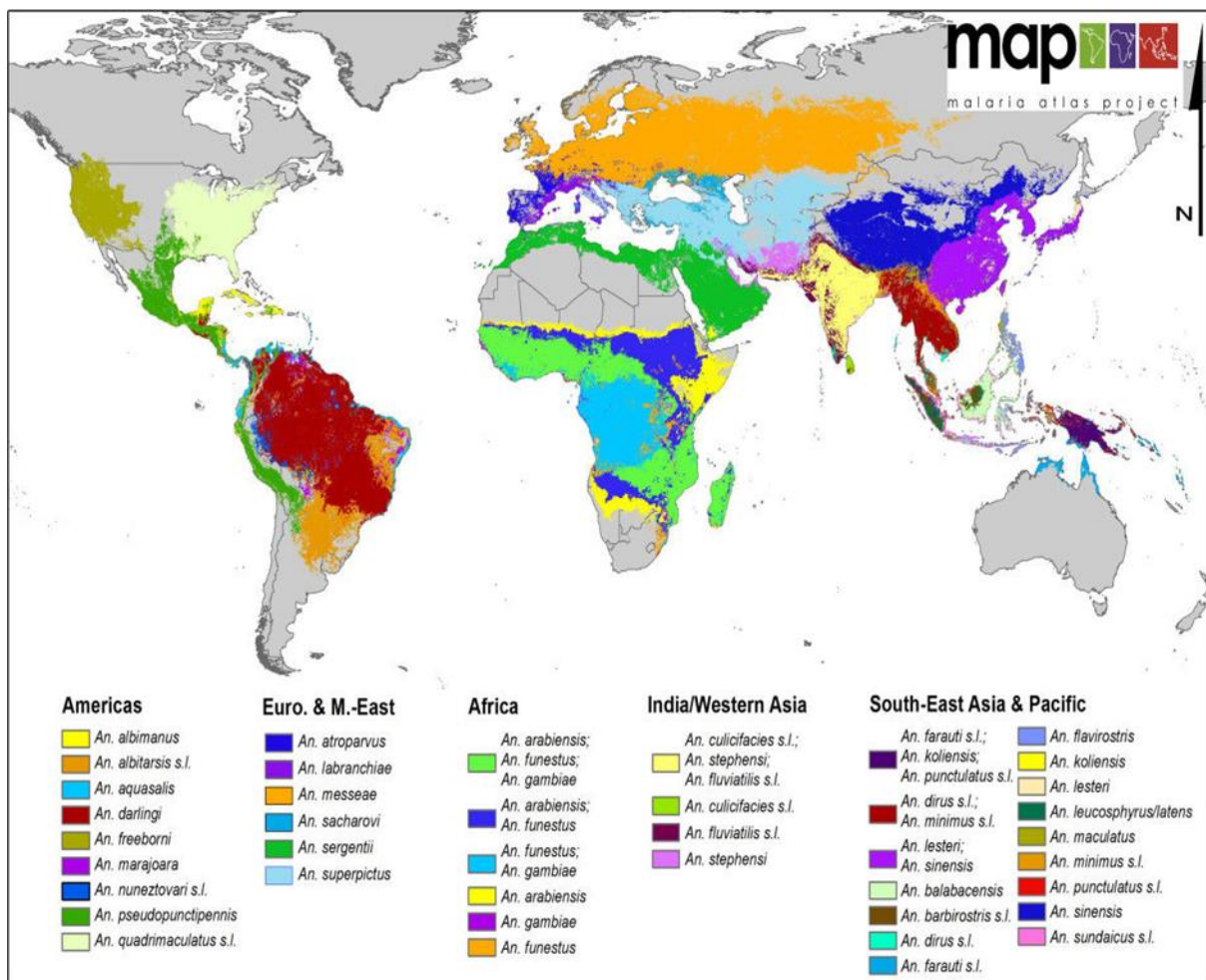


Figure 1 : Carte mondiale des espèces vectrices dominantes du paludisme.

Source: (Sinka M et al, 2012).

3.1.2. Bio-Ecologie des anophèles

Comme tous les moustiques, les anophèles sont holométaboles, c'est-à-dire qu'ils présentent des métamorphoses complètes. Toutes les espèces de moustiques passent par la succession de deux phases au cours de leur développement, la première est aquatique et couvre la vie pré-imaginale, c'est-à-dire l'œuf, les stades larvaires et la nymphe. La seconde phase est aérienne et concerne l'adulte ou imago.

Le type d'environnement aquatique adapté au développement larvaire du moustique (gîte larvaire ou gîte de reproduction) varie grandement d'une espèce à une autre et même au sein de la même espèce. Pour *An. gambiae* s.l ces gîtes sont constitués généralement par de collections d'eau de petite taille, peu profondes et ensoleillées dans lesquelles la végétation est absente tels que les empreintes de pas, de sabots ou de roue, fossés ou petites mares, trous d'emprunt de terre, marécages partiellement drainés, rizières, flaques résiduelles à la décrue des cours d'eau, etc. L'anophèle ne se développe généralement pas dans des cours d'eau ou des rivières rapides, les larves n'étant pas adaptées à l'action du courant.

Les mâles ne piquent pas et seules les femelles sont hématophages, elles trouvent dans le sang des vertébrés les protéines nécessaires à la maturation des œufs. Par conséquent, seuls les anophèles femelles sont susceptibles de transmettre le paludisme.

3.1.2.1. L'œuf

Selon les espèces de moustiques, les femelles pondent 50 à 300 œufs par cycle gonotrophique munis de flotteurs latéraux, remplis d'air mesurant 0,47 à 0,48 mm de long chacun et protégé par plusieurs enveloppes ne lui permettant pas de résister à la dessiccation. Le temps mis par les œufs pour éclore dépend de la température en grande partie, le temps d'éclosion est de 24 à 48 heures à une température de 30°C (Yaro, 2006a), tandis que dans les zones tempérées il varie de 7 à 14 jours.

3.1.2.2. La larve

La larve d'anophèle n'a pas de siphons respiratoires, elle doit rester parallèle à la surface de l'eau contrairement aux larves de la sous-famille des Culicinae qui restent obliques. La larve passe par quatre stades de développement et subit trois mues successives, elle se nourrit de nombreux micro-organismes d'animaux et de végétaux. La larve est très petite au premier stade et augmente en taille jusqu'à atteindre 5 à 6 mm à la fin du quatrième stade. Au quatrième stade, la larve se transforme en nymphe dont la durée de vie est très courte (1 à 2 jours). La durée du stade larvaire est d'environ 8 à 12 jours.

Morphologiquement la larve comprend trois parties: la tête, le thorax et l'abdomen.

➤ La tête

Elle porte deux antennes, deux gros yeux composés, une paire de brosses buccales qui servent à créer un courant d'eau apportant les particules alimentaires au niveau de la bouche qui est en position ventrale. La larve en s'alimentant, grâce à la capacité de torsion du cou, sa tête fait une hémi rotation (180°) et la bouche arrive au niveau de la surface, les brosses buccales brassent alors l'eau et filtrent les particules alimentaires qui, si elles sont sélectionnées, sont alors broyées entre les mandibules et le labiohypopharynx puis ingérées par la cavité buccale.

➤ Le thorax

Il est formé de trois segments non individualisés portant chacun de nombreuses soies dont la forme et la taille diffèrent selon leur implantation et selon les espèces.

➤ L'abdomen

Il apparaît sous forme cylindrique et comprend neuf segments, les sept premiers portent des soies palmées et des plaques dorsales sclérifiées caractéristiques des anophèles. Les larves des anophèles se tiennent parallèlement à la surface de l'eau avec leur face dorsale vers le haut. Les deux orifices respiratoires (stigmates) sont localisés sur le huitième segment et l'anus est localisé sur le dernier segment. Leur respiration est aérienne. L'absence de siphon respiratoire différencie les anophèles des autres moustiques.

3.1.2.3. La nymphe

Elle se présente sous forme de virgule ou de puppe, la nymphe ne se nourrit pas. Son corps est composé de deux parties : le céphalothorax et l'abdomen.

- Le céphalothorax : porte deux trompettes respiratoires traversant la surface de l'eau, ces trompettes assurent la respiration aérienne de la nymphe.

- L'abdomen comprend huit segments bien visibles, la contraction de l'abdomen coordonne les mouvements saccadés de la nymphe. En général au bout de 24 heures, la nymphe émerge pour donner un adulte.

3.1.2.4. L'adulte ou imago

Morphologiquement l'adulte comprend 03 parties : la tête, le thorax et l'abdomen.

➤ La tête

La tête porte deux gros yeux composés, une paire d'antennes sont fixées sur la tête entre les yeux composée de (15) quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle, elles portent de nombreux chémorécepteurs olfactifs qui servent pour

le repérage et la localisation de l'hôte pour le repas de sang. Une paire de palpes fixés sous les antennes sont composés de 5 parties chez l'anophèle. Les palpes sont recouverts d'écailles qui peuvent être de différentes couleurs et utilisées dans l'identification d'espèce. Un proboscis se détache de la partie ventrale de la tête et est dirigé vers l'avant.

➤ Le thorax

Il est formé de trois segments (prothorax, mésothorax, métathorax) portant chacun une paire de pattes. Le premier segment est réduit. C'est sur le deuxième que s'insère une paire d'ailes, ce segment est très développé et renferme de puissants muscles alaires. Une paire d'haltères, ou balanciers est placée sur le troisième, qui est l'homologue d'une paire d'ailes postérieures atrophiées, ayant un rôle dans l'équilibration du vol. Les six pattes, longues et graciles, sont formées de neuf articles. Les ailes présentent de nombreuses écailles claires et sombres : leur arrangement sur le rebord costal est caractéristique des anophèles.

➤ L'abdomen

Il est constitué de dix segments, dont les deux derniers sont télescopés à l'intérieur du 8^e segment : ils sont modifiés en organes reproducteurs. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale qui sont reliées par une membrane autorisant la dilatation de l'abdomen lors de la prise d'un repas de sang et lors de l'élaboration de la ponte dans les ovaires. L'ensemble tête-thorax-abdomen est dans le même alignement. Au repos cet alignement détermine par rapport au support un angle aigu caractéristique des anophèles.

3.1.3. Accouplement et fécondation

La femelle ne copule en général qu'une seule fois dans sa vie et reçoit suffisamment de sperme pour féconder les lots d'œufs, l'accouplement a lieu en général dans les 24 à 48 heures après l'émergence. L'essaimage se fait en général au crépuscule et est formé par les mâles, il se tient fréquemment à la verticale de points bien définis ou nettement contrastés et de façon répétitive, par exemple le sommet d'un arbre. Il peut se faire aussi à l'intérieur des habitations humaines (Dao et al., 2008). La copulation peut se faire en plein vol ou bien commencer en plein vol et se terminer lorsque le couple est au sol.

Après insémination, les spermatozoïdes sont emmagasinés dans un organe appelé spermathèque dont ils sont extraits progressivement pour féconder la totalité des œufs que la femelle produit (monogamie). Après l'accouplement la femelle part à la recherche d'un repas sanguin en général, mais ce repas sanguin peut-être pris par une femelle vierge. Elle a besoin

de deux repas sanguin pour féconder les premiers lots d'œufs et un seul suffit pour les autres lots.

3.1.4. Choix de l'hôte et alimentation

Les habitudes alimentaires et de repos des moustiques doivent être bien comprises, elles sont d'une grande importance dans les programmes de contrôle des vecteurs. La majorité des anophèles piquent la nuit, certains piquent juste après le coucher du soleil, d'autres piquent plus tard, aux environs de minuit ou même au petit matin. Certaines espèces d'anophèles entrent dans les maisons pour piquer (endophages), d'autres préfèrent piquer à l'extérieur (exophages). Les préférences trophiques des moustiques varient selon les espèces. Certains préfèrent prendre du sang chez l'homme plutôt que chez les animaux, ils sont appelés anthropophiles, tandis que d'autres, qui préfèrent le sang des animaux, ils sont appelés zoophiles. Les espèces anthropophiles sont les plus dangereuses, car elles sont susceptibles de transmettre la maladie d'homme à homme. Seules les femelles sont sanguinicoles, l'alimentation sucrée concerne les mâles et les femelles.

3.1.5. Lieu de repos

Après le repas de sang, le moustique femelle se repose pendant une courte période. Les moustiques qui ont piqués à l'intérieur se reposent habituellement sur un mur, sous le mobilier ou sur des vêtements pendus dans la maison : ils sont dits endophiles. Ceux qui piquent à l'extérieur se reposent habituellement sur des plantes, dans des trous, sur des arbres, sur le sol ou d'autres endroits frais et sombres : ils sont dits exophiles.

3.1.6. Digestion et maturation des œufs

Après le repas de sang, la femelle se repose le plus souvent près du sujet sur lequel elle s'est nourrie. Le sang absorbé se concentre, devient noir et exsude les produits aqueux pendant 1 à 2 heures. Pendant la digestion, les ovocytes grossissent jusqu'à occuper la plus grande partie de l'abdomen qui paraît blanc par transparence. Sur la base de l'aspect de son abdomen, un anophèle femelle peut être classé en fraîchement gorgée, semi-gravide ou gravide.

A jeun: L'abdomen est très plat.

Gorgée: L'abdomen apparaît rouge clair ou sombre à cause du sang ingéré. Les ovaires occupent une petite place à l'extrémité de l'abdomen, ils ne sont pas rouges et concernent deux segments sur la face ventrale et, tout au plus, 5 segments sur la face dorsale.

Semi-gravide: Le sang est de couleur sombre, presque noir et occupe 3 ou 4 segments sur la face ventrale et 6 ou 7 sur la face dorsale de l'abdomen dont les ovaires occupent la plus grande partie.

Gravide: Le sang est réduit à une petite tache sombre sur la face ventrale. Les ovaires occupent le reste de l'abdomen.

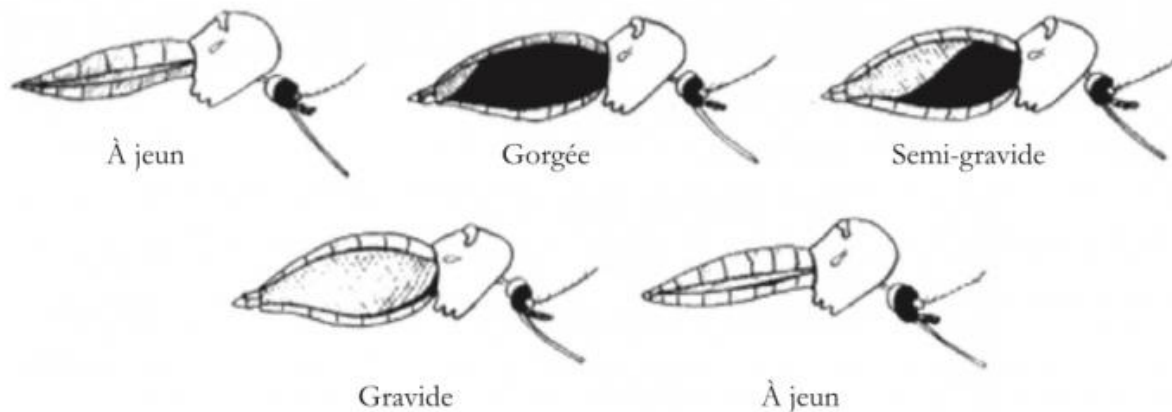


Figure 2 : Les principaux stades de digestion du sang et de maturation des ovaires, (DETINOVA, 1962)

Une fois à maturité, l'ovocyte est pondu ; c'est au cours de la ponte, lors de son passage dans l'oviducte qu'il est fécondé par les spermatozoïdes conservés dans la spermathèque et devient un œuf (Cléments, 1992). Après la ponte, l'anophèle part à la recherche d'un nouveau repas sanguin. Le cycle biologique qui débute par la piqûre d'un vertébré se poursuit par la digestion du sang et la maturation des ovocytes, puis par la recherche d'un site d'oviposition et enfin la recherche d'un nouvel hôte est dit cycle gonotrophique.

3.1.7. Vol et dispersion

Les capacités de vol varient d'une espèce à une autre et en fonction des conditions météorologiques. La dispersion moyenne des anophèles adultes en vol varie de 1 à 9 Km avec un rayon moyen de trois km autour du gîte larvaire (Carnevale et Robert, 2009). Cependant,

une étude de *Mark-release-recapture* des moustiques effectué à Banambani (Mali) a montré qu'un moustique coloré a été capturé à 7 km du point de lâchage (Touré *et al.*, 1998).

3.1.8. Longévité

La durée de vie d'un anophèle adulte se situe autour d'une semaine à dix jours pour les mâles et de deux à quatre semaines pour les femelles en région tropicale. Leur longévité peut être augmentée chez les femelles en zone tempérée, avec le phénomène de diapause hivernale (Mouchet, 2004). La plus longue longévité d'*Anopheles coluzzi* dans les conditions d'estivation naturelles rapportée est de sept (7) mois (Lehmann *et al.*, 2010). La durée moyenne de vie est un facteur essentiel pour la capacité vectorielle des anophèles.

3.1.9. Les Cycles du vecteur

- **Cycle trophogonique ou gonotrophique**

C'est l'intervalle de temps entre deux repas de sang chez le moustique, sa durée est de deux à trois jours. Il commence par la piqure d'un hôte vertébré, se poursuit par la digestion du sang, la maturation des ovocytes et se termine par la ponte.

- **Cycle biologique**

C'est un cycle au cours duquel se déroulent les différentes étapes d'évolution des stades de développement du moustique. Il s'accomplit entre 9 et 20 jours pour *An. gambiae* s.l et 3 semaines pour *An. funestus*, à la température de 27°C.

C'est au cours de ce cycle et plus précisément au moment du repas de sang que l'anophèle est capable de transmettre le paludisme ou de se faire infecté.

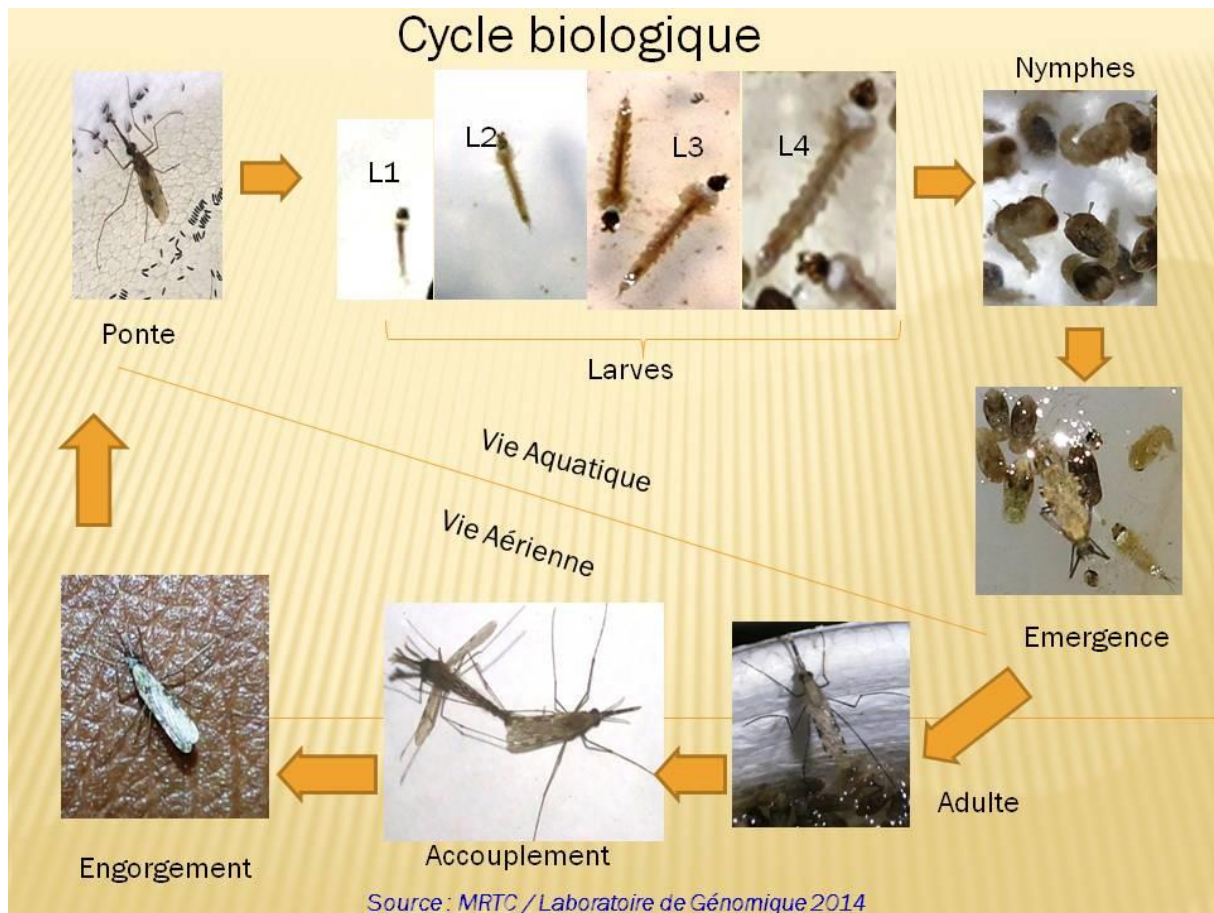


Figure 3 : Cycle biologique de l'anophèle.

3.2. Le Parasite

3.2.1. Systématique

Les parasites du genre *Plasmodium* sont des protozoaires de la classe des Sporozoaires appartenant au Phylum des apicomplexa. Ces plasmodiums humains diffèrent entre eux par plusieurs caractéristiques épidémiologiques, biologiques et cliniques spécifiques (Mouchet et al., 2004).

3.1.2. Cycle biologique

Le cycle se déroule successivement chez l'homme hôte intermédiaire (phase asexuée) et chez l'anophèle hôte définitif (phase sexuée). Le *Plasmodium* se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies, d'où son nom hématozoaire (Singh et al., 2004).

Chez l'homme le cycle est lui-même divisé en deux phases :

La phase hépatique ou pré-érythrocytaire (exo- érythrocytaire) : elle correspond à la phase d'incubation, elle est cliniquement asymptomatique

La phase érythrocytaire ou sanguine : elle correspond à la phase clinique de la maladie.

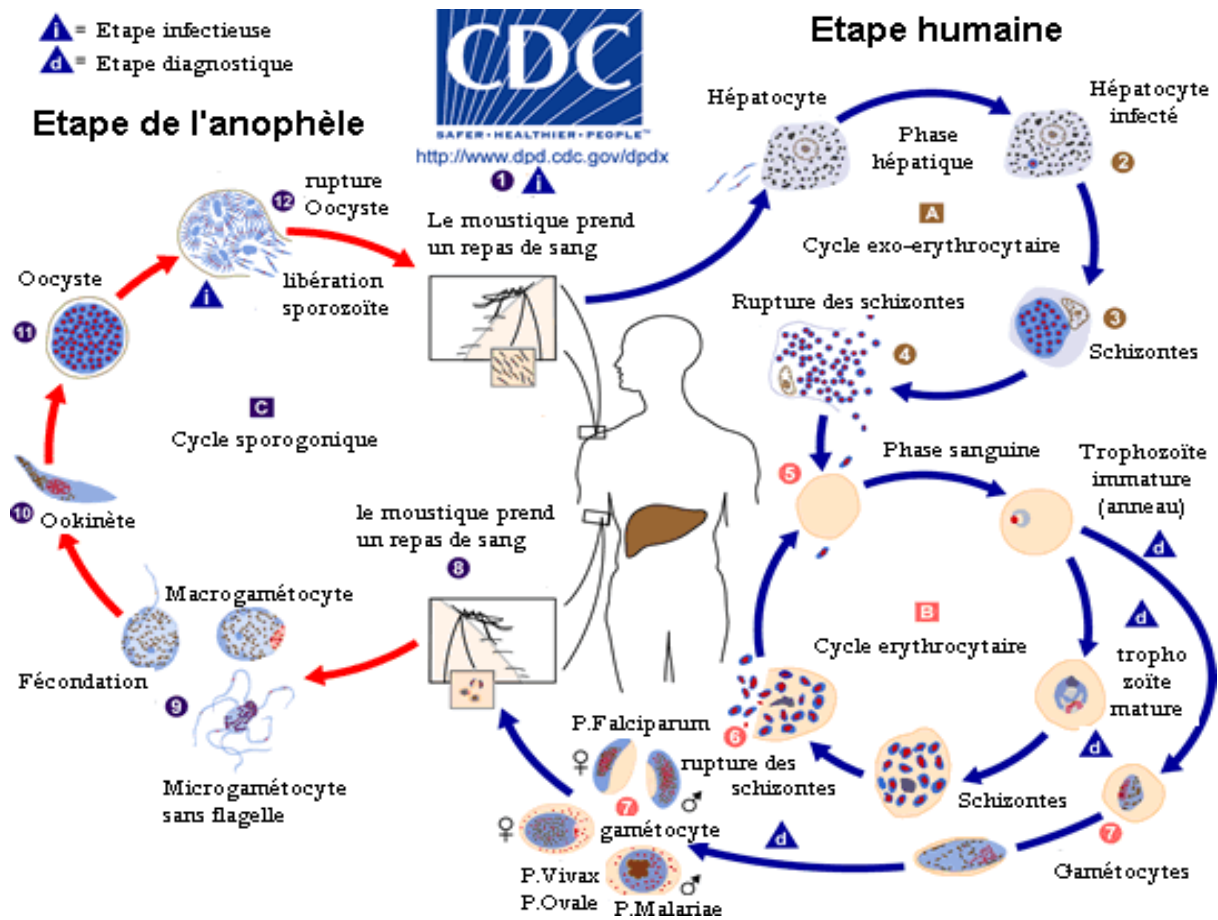


Figure 4 : Cycle biologique des *Plasmodies* (Source : CDC Atlanta)

3.3. Méthodes de lutte contre le paludisme

En absence de vaccin, la stratégie mondiale de lutte contre le paludisme fait intervenir deux composantes à savoir : les actions contre le parasite et celles contre les vecteurs.

3.3.1. Lutte anti vectorielle

Le contrôle des vecteurs est une composante essentielle de la stratégie globale de lutte contre le paludisme établie par l'OMS et cette stratégie de lutte anti vectorielle se fonde sur l'utilisation de techniques efficaces contre les souches locales. Cette lutte anti vectorielle consiste à :

- Réduire la population de moustique (densité et durée de vie),
- Empêcher les piqûres,
- Combattre la prolifération des gîtes larvaires

Actuellement, la lutte contre les vecteurs repose essentiellement sur deux principales catégories d'interventions dirigées contre les larves et les adultes.

3.3.1.1. La lutte anti-larvaire

Elle s'effectue au niveau des gîtes, elle consiste à la destruction des larves avant qu'elles ne deviennent des adultes capables de transmettre le paludisme. Cette lutte est basée sur trois méthodes : les méthodes biologique, Chimique et physique.

A- La méthode biologique

Cette méthode consiste à introduire, dans le biotope des moustiques, des espèces qui sont leurs ennemis, tels que les microorganismes ou prédateurs naturels des larves de moustiques ; les moyens les plus répandus sont les larvicides biologiques comme *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) et *Bacillus sphaericus* qui tuent les larves et les nymphes en produisant des toxines, et les poissons larvivores, comme *Gambusia affinis* et le guppy (*Poeciliareticulata*). Ils peuvent être utilisés dans les eaux d'irrigation des cultures vivrières et dans les eaux de boisson. Le Bti a le désavantage de n'être actif que par ingestion, puis sa densité l'entraîne au fond alors que les larves d'anophèle se nourrissent en surface. Elle se détruit très rapidement dans le milieu naturel et doit donc être réappliquée périodiquement (OMS, 2003).

Gambusia est plus efficace dans les eaux claires, tandis que *Poecilia* est utilisé avec succès dans les eaux polluées de matières organiques. *Poecilia* supporte des températures plus élevées que *Gambusia* et convient donc mieux dans les rizières des pays chauds. Cependant, à l'inverse de *Gambusia*, il ne peut survivre à des températures inférieures à 10°C (OMS, 2003).

B- La méthode chimique

Elle est basée sur l'utilisation d'une certaine quantité de pesticide sur la surface de l'eau qui abrite les larves et de les exposer à des substances naturelles ou de synthèse provoquant leur mort par empoisonnement.

- Les organophosphorés sont les plus utilisés, le Temephos qui a une très faible toxicité pour les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde (OMS, 2003). Il peut être mis dans l'eau d'irrigation et a aussi été utilisé pour traiter les eaux de boisson. Il est cependant toxique pour les poissons, le Fenthion est aussi communément utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments.

- Le pétrole et ses dérivés sont utilisés pour les eaux stagnantes impropres à l'irrigation ou à la consommation par les animaux. Ils forment un film couche à la surface de l'eau, empêchant les larves de respirer.

C- La méthode physique

On entend par lutte physique toute modification intentionnelle du milieu qui vise soit à faire disparaître ou réduire par des moyens physique les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent, soit à provoquer des modifications physique du milieu qui rendent l'eau impropre à la reproduction des moustiques. Nous avons le drainage, le comblement de plans d'eau et de fossés, le boisement etc., cette intervention s'appelle modification environnementale.

3.3.1.2. Lutte contre les adultes (ou imagos)

- **Moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII)**

Elles offrent une bonne protection mécanique pour limiter le contact entre les humains et les vecteurs lorsqu'elles sont en bon état et que la taille de leurs mailles est adaptée. Elle a un double effet, insecticide et excito-répulsif, entraîne une diminution du nombre de moustiques dans les chambres où elles sont installées, et confère donc une protection partielle de l'utilisateur lorsqu'il dort sous sa moustiquaire.

- **Pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides à effet rémanent (PID)**

C'est la méthode de lutte anti-vectorielle le plus souvent employée. L'effet principal des insecticides est de tuer les moustiques quand ils pénètrent dans les maisons et se posent sur les surfaces traitées. Les pulvérisations ne sont ni efficaces ni utiles pour lutter contre les vecteurs qui préfèrent se poser à l'extérieur des habitations (moustiques exophile). En revanche, elles pourraient être efficaces pour les moustiques qui piquent à l'extérieur puis entrent dans les maisons pour se reposer après leur repas (moustiques endophiles).

- **Amélioration de l'habitat humain**

Elle permet d'empêcher l'entrée des moustiques et leur repos à l'intérieur. La protection par des moustiquaires aux fenêtres, aux avancées des toits, aux portes est une méthode efficace si elle est bien faite et entretenue. Les implantations de nouvelles habitations doivent être planifiées (plan, matériaux de construction, localisation par rapport aux gîtes) pour prévenir le paludisme (OMS, 2003).

➤ **Répulsifs**

Les répulsifs existent sous forme de crème, de lotion ou d'aérosol, qui peuvent être appliqués directement sur la peau ou sur les vêtements et peuvent réduire l'activité des moustiques. Les répulsifs constituent la mesure de protection individuelle.

➤ **Spirales anti-moustiques**

Les spirales sont très populaires et largement utilisés. Les spirales brûlent lentement et régulièrement pendant 6-8 h, libérant l'insecticide dans l'air qui tue ou éloigne les moustiques à distance.

➤ **Vêtements protecteurs**

L'utilisation des vêtements couvrant la plus grande partie du corps permet une protection individuelle contre les piqûres de moustiques (OMS, 2003).

➤ **Lutte génétique**

Elle offre des opportunités de lutte contre le paludisme. L'utilisation des souches transgéniques de moustiques a pour objectif de remplacer ou supprimer les populations de vecteurs sauvages et ou de réduire la transmission. (Knols B et al., 2007).

3.3.2. Lutte antiparasitaire :

Elle est basée sur la prévention et le traitement des cas. La lutte préventive peut se baser sur le traitement présomptif intermittent (TPI), le traitement des cas du paludisme simple se fait par les ACT qui agissent sur les schizontes (schizonticides) et sur les gamètes (gamétocides) et les cas graves avec les sels de quinine à l'hôpital.

3.4. Considérations éthiques

La permission de travailler dans le village a été accordée par le chef de village après une réunion d'information initiale au cours de laquelle la nature et les objectifs de l'étude ont été expliqués à tous les membres de la communauté dans la langue locale. Le consentement libre et éclairé des captureurs (pour participer aux collectes de moustiques) et des chefs de famille a été demandé et obtenu à travers des échanges entre investigateurs et villageois, avant l'inscription de leur maison dans l'étude.

METHODOLOGIE

4. Méthodologie

4.1. Lieu et période d'étude

L'étude s'est déroulée à Ballabougou de janvier 2012 à décembre 2016, commune de Toubacoro, cercle de Banamba en zone sahélienne dans la région de Koulikoro.

4.1.1. Description du lieu d'étude

Selon le chef de village actuel, Ballabougou serait fondé vers 1910 par un chasseur du nom de Balla Coulibaly qui serait venu de Sirani, village situé à 10 km au Nord de Ballabougou. Le village prit le nom Ballabougou qui signifie en Bambara le "hameau de Balla". De sa création à nos jours, sept chefs de village se sont succédés. Gasiré Diarra est l'actuel chef de village (depuis 2015).

La population actuelle, entièrement musulmane, est estimée à 700 habitants. Cette population est composée de Bambara et de Peulh vivant dans des maisons construites en banco et dont les toitures sont en terre battue ou en tôle. Les cases rondes avec toit en paille sont généralement utilisées par certains Peulhs.

A cause de sa petite taille et de sa proximité de Toubacoro (chef-lieu de commune), le village de Ballabougou ne dispose pas d'infrastructure sanitaire. Seulement trois salles de classes (une école communautaire) construites en 2014 constituent l'infrastructure sociale la plus importante.

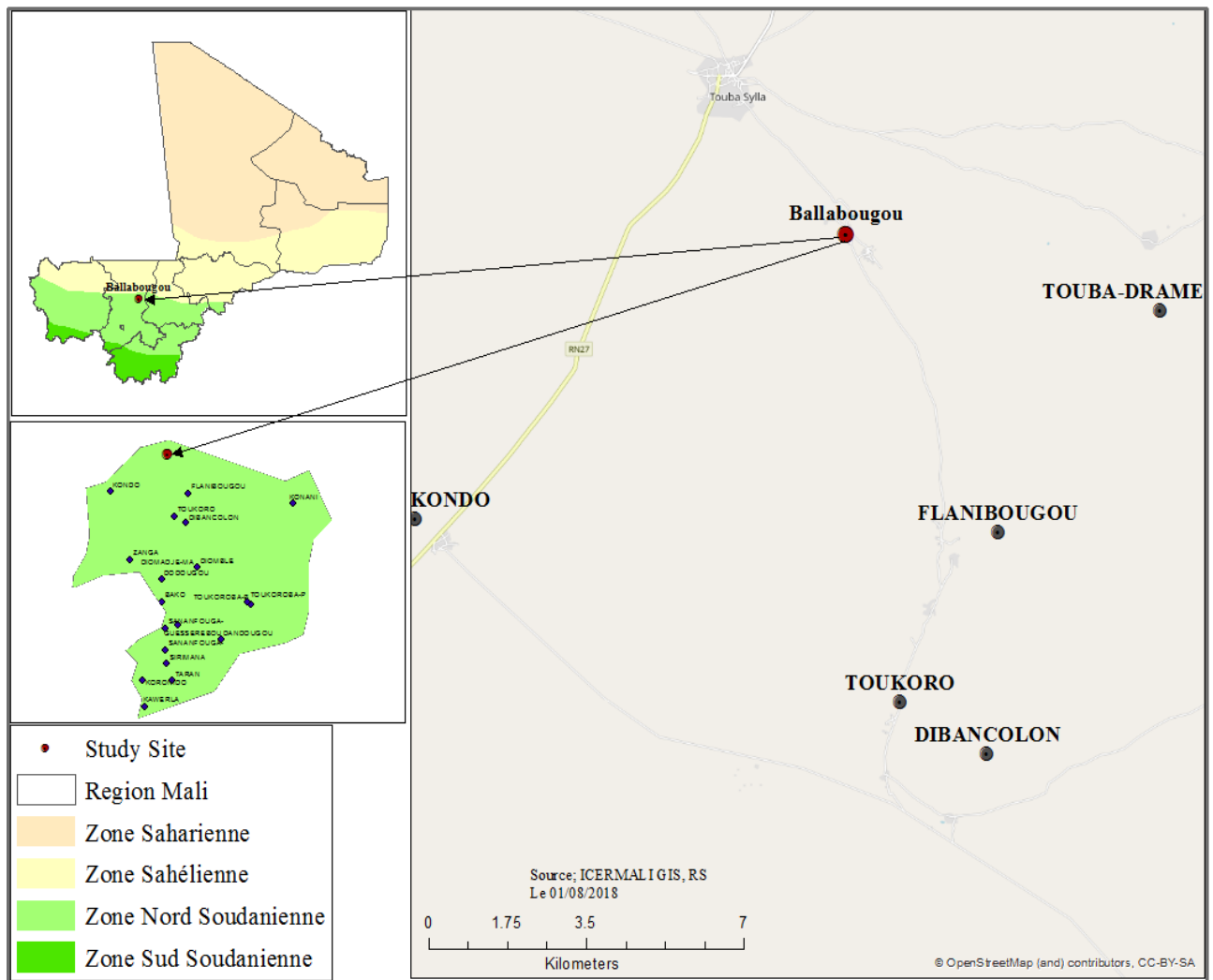


Figure 5 : Carte du Mali montrant la région de Koulikoro et la position du site d'étude

Source : MRTC GIS RS, Bamako

4.2. Caractéristiques géographiques

4.1.2.1 Situation géographique

Le village de Ballabougou (13,5°N, 7,09°W) est limité au Nord-Est par Toubacoro (4 km), au Sud par Flanibougou (7 km), à l'Est par Bagadadji (6 km) et au Sud-Ouest par Kondo (12 km).

4.1.2.2. Relief et Hydrographie

Le relief est essentiellement composé de plaines sablo-argileuses. Deux marigots situés des côtés Nord et Sud arrosent le village pendant la saison pluvieuse qui tarissent tous vers la fin

du mois de novembre juste après la fin de la saison de pluies (octobre). Ils constituent les principaux lieux de reproduction des anophèles pendant la saison des pluies.

4.1.2.3. Climat et végétation

Le climat est de type sahélien avec deux vents dominants : l'harmattan qui souffle du Nord-Est au Sud-Ouest et la mousson qui souffle du Sud-Ouest au Nord-Est. Ces deux vents divisent l'année en deux saisons :

- une saison des pluies de juin à octobre avec une moyenne pluviométrique annuelle autour de 650 mm mal répartie dans le temps et dans l'espace;
- une saison sèche qui dure 7 à 8 mois comprenant une saison sèche fraîche (novembre à février) et une saison sèche chaude (mars à mai).

Les moyennes thermiques oscillent entre 12 et 14°C pendant la période froide, et 35 à 43°C pendant la période chaude.

Le couvert végétal typiquement sahélien, composée d'arbres et d'arbustes est fortement marqué par les actions anthropiques. Il est composé d'une strate arborée parmi lesquels on peut citer le Baobab (*Andosonia digitata*), *Saba senegalensis*, *Guera senegalensis*, *Kaya senegalensis* (caïlcédrat), *Vitellaria paradoxa* (karité) etc..., et d'une strate herbacée composée en saison humide d'herbes estompant le relief. Ce sont essentiellement *Andropogon pseudo-pericus*, *Andropogon seeds*, *Hygrophila- senegalensis* etc.

4.1.2.4. Faune

La faune est constituée de reptiles, de quelques petits mammifères (lièvres, écureuils, etc..) et beaucoup d'espèces d'oiseaux. A côté de ceux-ci, on y trouve quelques espèces d'insectes d'importance médicale comme les Culicidae (Anopheles, Culex, Aèdes), les Muscidae (*Musca domestica*), les Psychodidae (*Phlebotomus*).

4.1.2.5. Activités économiques

Elles sont essentiellement basées sur l'agriculture hivernale. Les cultures portent essentiellement sur le mil, le sorgho, le maïs, le sésame, le haricot, l'arachide, etc...

Les produits de cueillette sont les fruits de Baobab, les noix de karité.

L'élevage constitue une activité secondaire, on y élève des bovins, des caprins, des ovins et de la volaille.

4.2. Collecte des données

Après l'obtention d'un consentement communautaire, notre équipe de recherche a procédé à un recensement exhaustif des cases du village. Parmi celles-ci, 40 ont été choisies au hasard pour la collecte des moustiques. Un numéro d'identification (écrit sur le battant de la porte d'entrée) a été attribué à chacune des cases sélectionnées

Cinq jeunes volontaires du village ont été formés aux techniques de collecte des moustiques par l'équipe de recherche pour faire régulièrement la collecte des moustiques.

*Pour comprendre le rôle des moustiques survivant en saison sèche (estivants) dans la transmission de la saison de pluies, nous avons divisé l'année en 3 périodes :

- période sèche ou saison sèche : de décembre à mai (absence d'eau dans les gîtes larvaires) ;
- Période pré-humide : 3 premières semaines de l'hivernage.
- Période humide : fin de la période pré-humide au mois de novembre.

Les paramètres entomologiques observés étaient :

- la densité par case qui exprime le nombre moyen d'anophèles collecté par case. Elle est égale au nombre d'anophèles capturés divisé par le nombre de cases prospectées.
- le taux d'infection qui correspond au pourcentage de moustiques porteur d'antigène circum sporozoïtique dans la portion tête thorax (indice d'antigène sporozoïtique : IAS) par rapport au nombre total de moustiques examinés.

4.2.1. Capture des moustiques

La capture des moustiques a été faite à l'aide d'aspirateurs à bouche par les 5 jeunes volontaires formés par l'équipe de recherche. La capture était effectuée à l'intérieur des 40 cases sélectionnées entre 08 et 11 heures du matin. Le captureur muni d'une torche et d'un aspirateur fouillait minutieusement les coins et recoins de chaque case et ne ressortait qu'après avoir complété la prospection. Il arrivait même souvent qu'à titre de contrôle, qu'un deuxième captureur repasse dans les cases déjà prospectées.

Les moustiques capturés étaient gardés dans de petits pots en carton recouverts de tulle moustiquaire. Ils étaient ensuite triés morphologiquement et seul *An. gambiae* s.l et *An. funestus* étaient gardés. Les spécimens étaient conservés par case dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml contenant de l'alcool dilué à 80%. Sur chaque tube étaient marqués, la date de capture et le numéro d'identification de la case. Le nombre d'anophèles capturés par case était

noté sur des fiches de renseignement et les échantillons étaient acheminés au laboratoire pour traitement.

4.2.2. Traitement des moustiques collectés au laboratoire

4.2.2.1. Détermination du taux d'infection

La mise en évidence de la présence de la protéine de surface de *Plasmodium falciparum* chez les anophèles femelles a été faite par la technique de l'ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*). (Burkot *et al.*, 1984 ; Wirtz *et al.*, 1987).

Voir en annexe la description et le principe de la technique ELISA.

4. 2.2.2. Identification des espèces d'*An gambiae* s.l. par la technique moléculaire

La technique moléculaire de polymérisation en chaîne ou PCR a été utilisée pour différencier les espèces (Fanello *et al.*, 2012) d'*An gambiae* s.l. (*An. arabiensis*, *An. coluzzii* et *An. gambiae*) à partir de l'ADN extrait des broyats de la portion tête-thorax des moustiques utilisés pour faire l'ELISA.

Compte tenu du faible nombre de moustiques collectés pendant la saison sèche, tous les échantillons de cette période ont été testés. Pendant la saison de pluies, 30% à 60% des échantillons étaient testés.

Voir technique et principe en annexe.

4.4. Saisie et analyse des données

Toutes les données générées ont été saisies dans Microsoft Excel 2007 et analysées dans le logiciel SPSS 16.0.

Le test de χ^2 de Pearson a été utilisé pour la comparaison des fréquences des différentes espèces.

RESULTATS

5. Résultats

5.1. Variations temporelles des densités d'*An. gambiae* s.l et de la pluviométrie

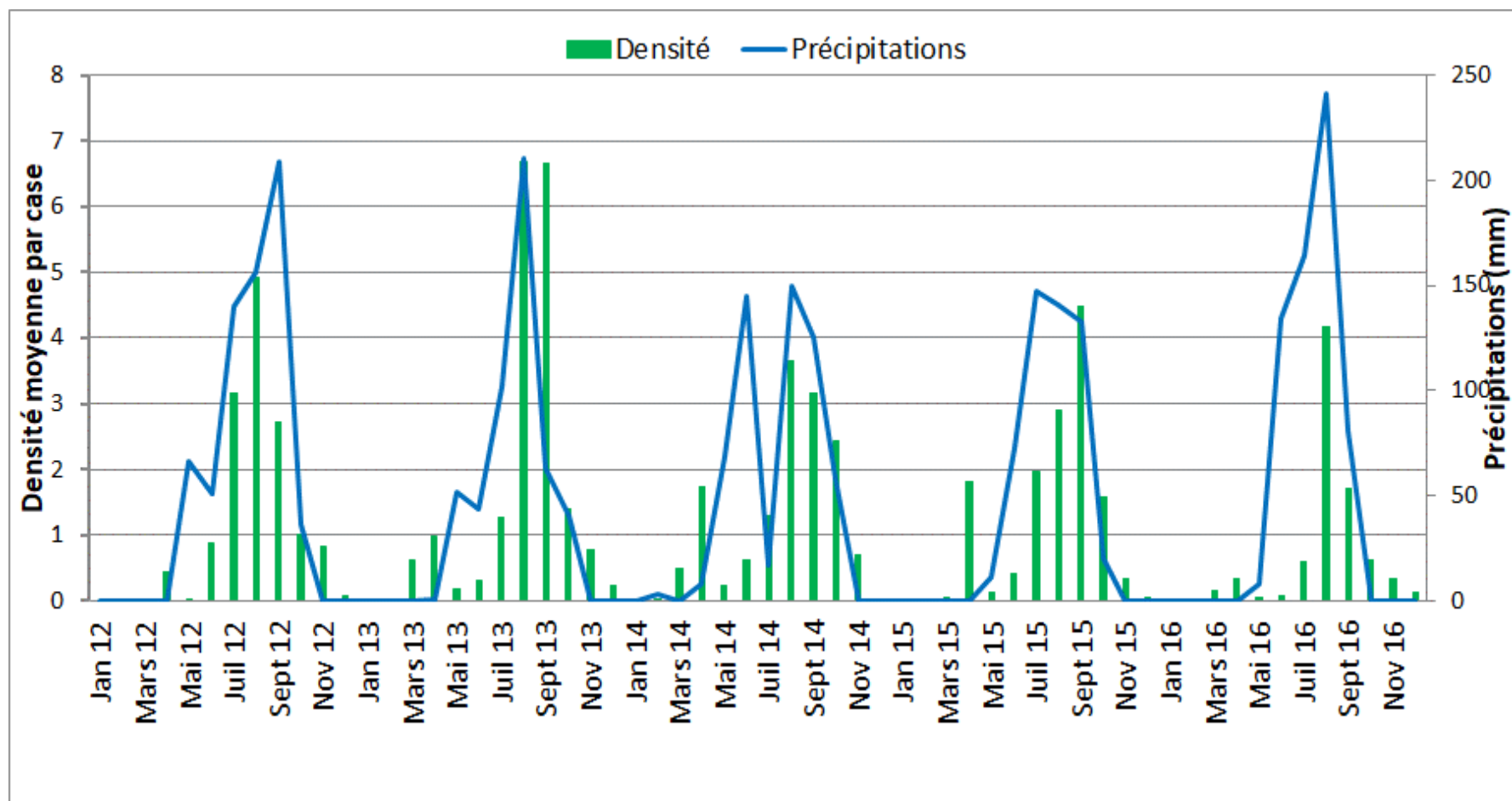


Figure 6 : Variation mensuelle des densités moyennes par case d'*An. gambiae* s.l et de la pluviométrie à Ballabougou de 2012 à 2016.

La figure ci-dessus montre les variations mensuelles et annuelles. De 2012 à 2016 nous avons capturé un total de 12281 spécimens d'*An gambiae s.l.* représentant le vecteur majeur le plus abondant.

De janvier à mai, les densités moyennes n'atteignaient guère 0,5 moustique par case excepté le mois d'avril de 2014 et 2015, où des densités observées étaient de 2 moustiques par case. Les densités commençaient à augmenter à partir du mois de juin pour atteindre leurs valeurs les plus élevées en août ou septembre selon les années. La baisse des densités commençait à partir du mois d'octobre et déjà à partir de décembre, les moustiques devenaient indétectables.

La pluviométrie variait d'un mois à l'autre et d'une année à une autre. A part quelques rares précipitations enregistrées pendant la saison sèche, les pluies hivernales sont survenues de mai jusqu'en Octobre. Le pic est généralement observé chaque année au mois d'août. La pluviométrie la plus élevée a été observée en 2016 (241mm). De façon générale les densités les plus élevées ont été observées pendant les périodes de fortes pluviométries.

5.2. Composition vectorielle

5.2.1. Espèces vectrices rencontrées

Tableau I : Fréquence des espèces d'*An. gambiae* s.l et d'*An. funestus* à Ballabougou de 2012 à 2016

Années	<i>An. gambiae</i> s.l		<i>An. funestus</i>		Total
	N	Fréq	N	Fréq	
2012	1359	100.0	0	0.0	1359
2013	3707	99.8	6	0.2	3713
2014	2799	98.9	30	1.1	2829
2015	3008	99.8	5	0.2	3013
2016	1408	100.0	0	0.0	1408
Total	12281	99.7	41	0.3	12322

Au total 12322 anophèles vecteurs du paludisme ont été collectés au cours de la période d'étude. *An. gambiae* s.l. représentait 99.7% et *An. funestus* seulement 0.3%. La fréquence la plus élevée d'*An. funestus* (1.1%) a été observée en 2014. Cette espèce n'a pas été rencontrée en 2012 et en 2016.

5.2.2. Composition spécifique d'*An. gambiae* s.l

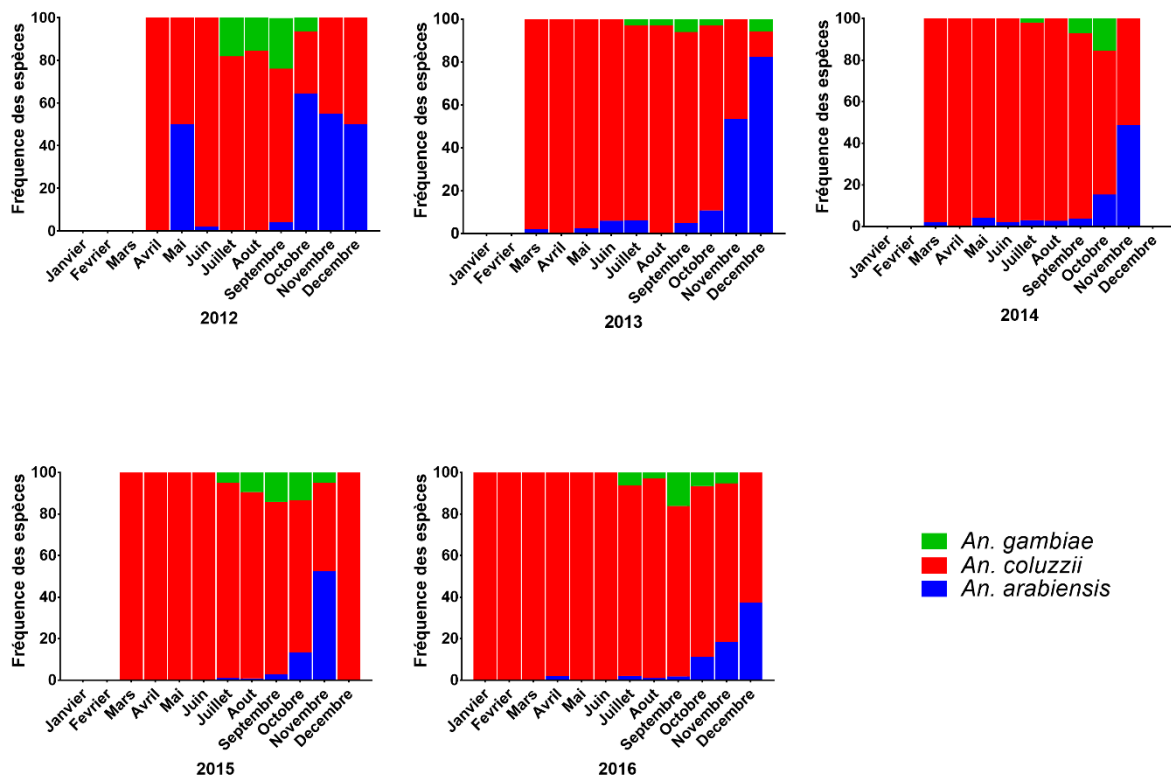


Figure 7 : Fréquences relatives des espèces d'*An. gambiae* s.l à Ballabougou de 2012 à 2016

Les trois espèces d'*An gambiae* s.l. reconnues au Mali (*An arabiensis*, *An coluzzii* et *An gambiae*) ont toutes été rencontrées pendant les 5 années d'étude. Il faut signaler que durant les cinq ans, un seul hybride (*An. coluzzii/gambiae*) a été observé (septembre 2016).

Les fréquences des différentes espèces du complexe *An. gambiae* s.l subissent des variations mensuelles :

- *An. coluzzii* s'observait toute l'année avec des fréquences très élevées en saison sèche et moins élevées vers la fin de la saison des pluies (octobre, novembre et décembre). Il y avait une différence significative ($P < 0,0001$) d'une année à une autre.
- *An. arabiensis* était rencontré en saison sèche à très faibles fréquences mais présentait des fréquences relativement plus élevées en fin de saison pluvieuse). Ces fréquences ne variaient pas significativement d'une année à une autre ($P = 0,1790$)
- *An. gambiae* n'apparaissait qu'en saison des pluies avec des fréquences relativement faibles. Une différence significative n'a pas été observée entre ces fréquences des différentes années ($P = 0,2014$).

5.2.3. Composition de la population d'*An. gambiae* s.l pendant les différentes périodes

Tableau II : Composition des espèces d'*An. gambiae* s.l pendant les différentes périodes à Ballabougou de 2012 à 2016

Années	Espèces	Périodes					
		Sèche		Pré-humide		humide	
		N	%	N	%	N	%
2012	<i>An arabiensis</i>	1	3,45	1	14,29	76	17,16
	<i>An coluzzii</i>	28	96,55	6	85,71	309	69,75
	<i>An gambiae</i>	0	0	0	0	58	13,09
	Total	29	100	7	100	494	100
2013	<i>An arabiensis</i>	15	10,95	3	6,38	64	11,62
	<i>An coluzzii</i>	121	88,32	44	93,62	472	85,66
	<i>An gambiae</i>	1	0,73	0	0,00	15	2,72
	Total	144	100	48	100	558	100
2014	<i>An arabiensis</i>	1	0,74	3	5,26	67	11,00
	<i>An coluzzii</i>	134	99,26	54	94,44	513	84,24
	<i>An gambiae</i>	0	0,00	0	0,00	29	4,76
	Total	143	100	63	100	615	100
2015	<i>An arabiensis</i>	0	0,00	1	1,20	39	10,32
	<i>An coluzzii</i>	189	100	79	95,18	296	78,31
	<i>An gambiae</i>	0	0,00	3	3,62	43	11,38
	Total	193	100	83	100	384	100
2016	<i>An arabiensis</i>	7	5,51	0	0,00	18	5,01
	<i>An coluzzii</i>	120	94,49	17	100	311	86,63
	<i>An gambiae</i>	0	0,00	0	0,00	29	8,08
	Total	127	100	20	100	364	100

De façon générale, *An. coluzzii* prédominait pendant toutes les périodes. Les fréquences les plus élevées sont observées en période sèche (88,32% à 100%) et même trois semaines après la première grande pluie (période pré-humide) où les fréquences pouvaient atteindre 100%.

An. gambiae ne s'observait qu'en saison de pluies. Sa fréquence la plus élevée a été observée en 2012 (13,09%) et la plus faible en 2013 (2,72%).

L'espèce *An. arabiensis* bien que présente pendant toutes les périodes, présentait ses fréquences les plus élevées en période humide. Ses fréquences non égalées pendant toute la période d'étude ont été observées en 2012 (17,16%).

5.3. Détermination des taux d'infection

5.3.1. Taux d'infection d'*An. gambiae* s.l

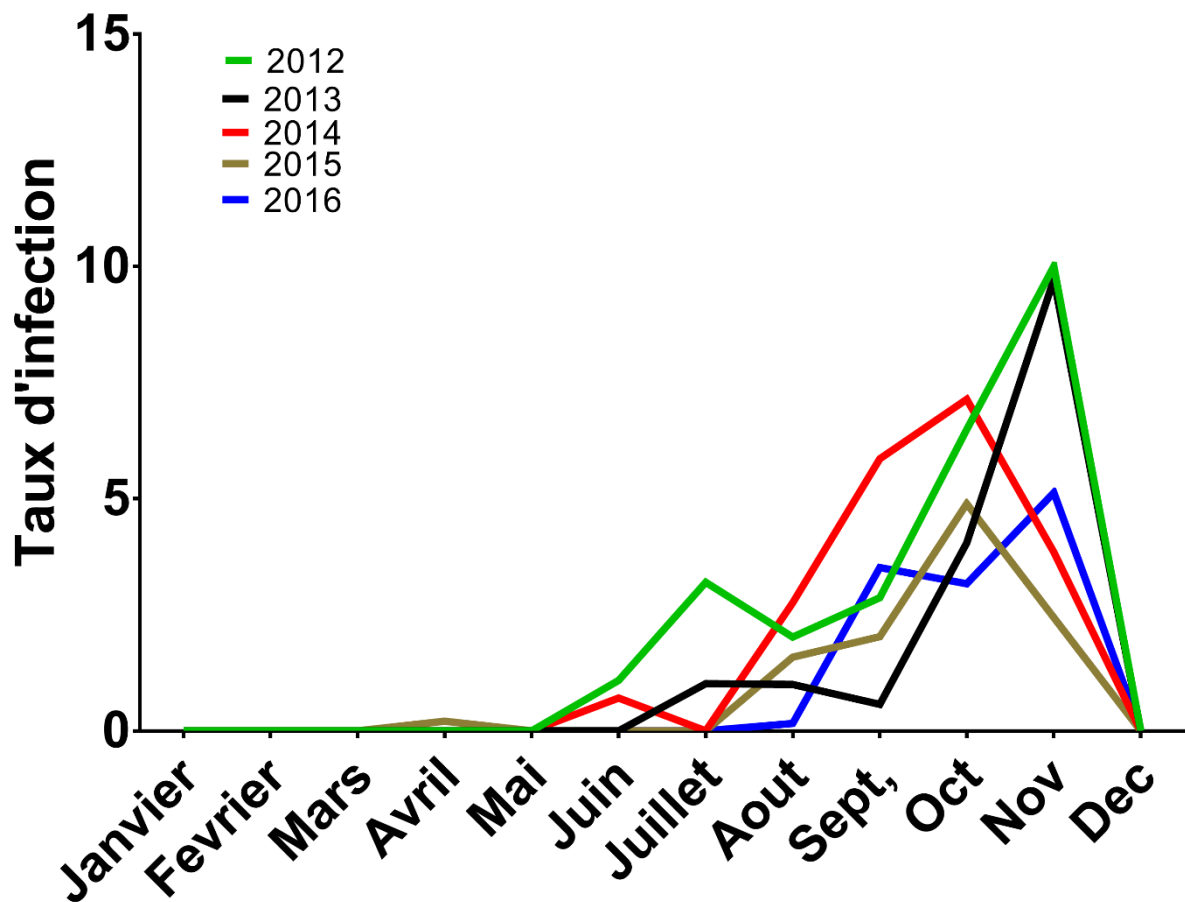


Figure 8 : Taux d'infection d'*Anopheles gambiae* s.l à Ballabougou de 2012 à 2016

Pendant la saison sèche (de janvier à mai) nous n'avons observé qu'un seul moustique porteur d'antigène sporozoïtique en avril 2015 au cours des cinq années d'étude. Les infections ont été observées en saison des pluies et les pics apparaissaient vers la fin de cette saison (septembre, octobre et novembre).

5.3.2. Taux d'infection des espèces d'*An. gambiae* s.l

Tableau III : Taux d'infection des espèces d'*An. gambiae* s.l à Ballabougou de 2012 à 2016

Espèces	Nombre Traités	Positifs	IAS %
<i>An. arabiensis</i>	296	10	3,37
<i>An. coluzzii</i>	2693	123	4,56
<i>An. gambiae</i>	178	4	2,24
Total	3168	137	4,32

Les taux d'infection les plus élevés ont été observés chez *An. coluzzii* (4,56%) suivi de *An. arabiensis* (3,37) et *An. gambiae* (2,24%).

5.3.3. Taux d'infection des espèces d'*An. gambiae* s.l pendant les différentes années

Tableau IV : Taux d'infection des espèces d'*An. gambiae* s.l à Ballabougou de 2012 à 2016.

Années	Périodes	Espèces	Nbre Traité	Positifs	IAS%
2012	Sèche	<i>An. arabiensis</i>	1	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	28	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Pré-humide	<i>An. arabiensis</i>	1	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	6	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Humide	<i>An. arabiensis</i>	76	2	2,63
		<i>An. coluzzii</i>	309	26	8,41
		<i>An. gambiae</i>	58	0	0,00
2013	Sèche	<i>An. arabiensis</i>	15	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	121	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	1	0	0,00
	Pré-humide	<i>An. arabiensis</i>	3	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	44	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Humide	<i>An. arabiensis</i>	64	4	6,25
		<i>An. coluzzii</i>	472	17	3,60
		<i>An. gambiae</i>	15	3	20,00
2014	Sèche	<i>An. arabiensis</i>	1	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	134	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Pré-humide	<i>An. arabiensis</i>	3	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	54	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Humide	<i>An. arabiensis</i>	67	2	2,99
		<i>An. coluzzii</i>	513	43	8,38
		<i>An. gambiae</i>	29	1	3,45
2015	Sèche	<i>An. arabiensis</i>	0	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	189	1	0,53
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Pré-humide	<i>An. arabiensis</i>	1	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	79	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	3	0	0,00
	Humide	<i>An. arabiensis</i>	39	2	5,13
		<i>An. coluzzii</i>	296	24	8,11
		<i>An. gambiae</i>	43	0	0,00
2016	Sèche	<i>An. arabiensis</i>	7	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	120	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Pré-humide	<i>An. arabiensis</i>	0	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	17	0	0,00
		<i>An. gambiae</i>	0	0	0,00
	Humide	<i>An. arabiensis</i>	18	0	0,00
		<i>An. coluzzii</i>	311	12	3,86
		<i>An. gambiae</i>	29	0	0,00

Le tableau ci-dessus montre la variation de l'infection par espèce pendant les différentes années d'étude. Les trois espèces étaient toutes porteuses de l'antigène sporozoïtique en 2013 et 2014. En 2012 et en 2015, seulement *An. arabiensis* et *An. coluzzii* étaient infectés. En 2016, seul *An. coluzzii* était porteuse de l'antigène du parasite.

5.3.4. Taux d'infection des espèces d'*An. gambiae* s.l pendant les différentes périodes

Tableau V : Taux d'infection des différentes espèces d'Anopheles gambiae s.l à Ballabougou pendant les différentes périodes de 2012 à 2016

Périodes	Espèces	Nombre traité	Positifs	IAS (%)
Sèche	<i>An. arabiensis</i>	24	0	0,00
	<i>An. coluzzii</i>	592	1	0,17
	<i>An. gambiae</i>	1	0	0,00
Pré-humide	<i>An. arabiensis</i>	8	0	0,00
	<i>An. coluzzii</i>	200	0	0,00
	<i>An. gambiae</i>	3	0	0,00
Humide	<i>An. arabiensis</i>	264	10	3,79
	<i>An. coluzzii</i>	1901	122	6,42
	<i>An. gambiae</i>	174	4	2,30

Le tableau ci-dessus présente les taux d'infection des espèces d'*An gambiae* s.l. par période. Pendant la période sèche, seul un spécimen d'*An coluzzii* sur les 617 collectés durant les 5 années d'étude était positif. Aucune espèce parmi les 211 des trois espèces collectées ne portait l'antigène anti-sporozoïtique pendant la période pré-humide. Par contre, pendant la période humide, toutes les espèces étaient positive avec un taux d'infection de 3,79% (n=264) pour *An arabiensis*, 6,42% (n=1901) pour *An coluzzii* et 2,30% (n=174) pour *An gambiae*.

5.3.5. Contribution des différentes espèces d'*An. gambiae* s.l dans la transmission

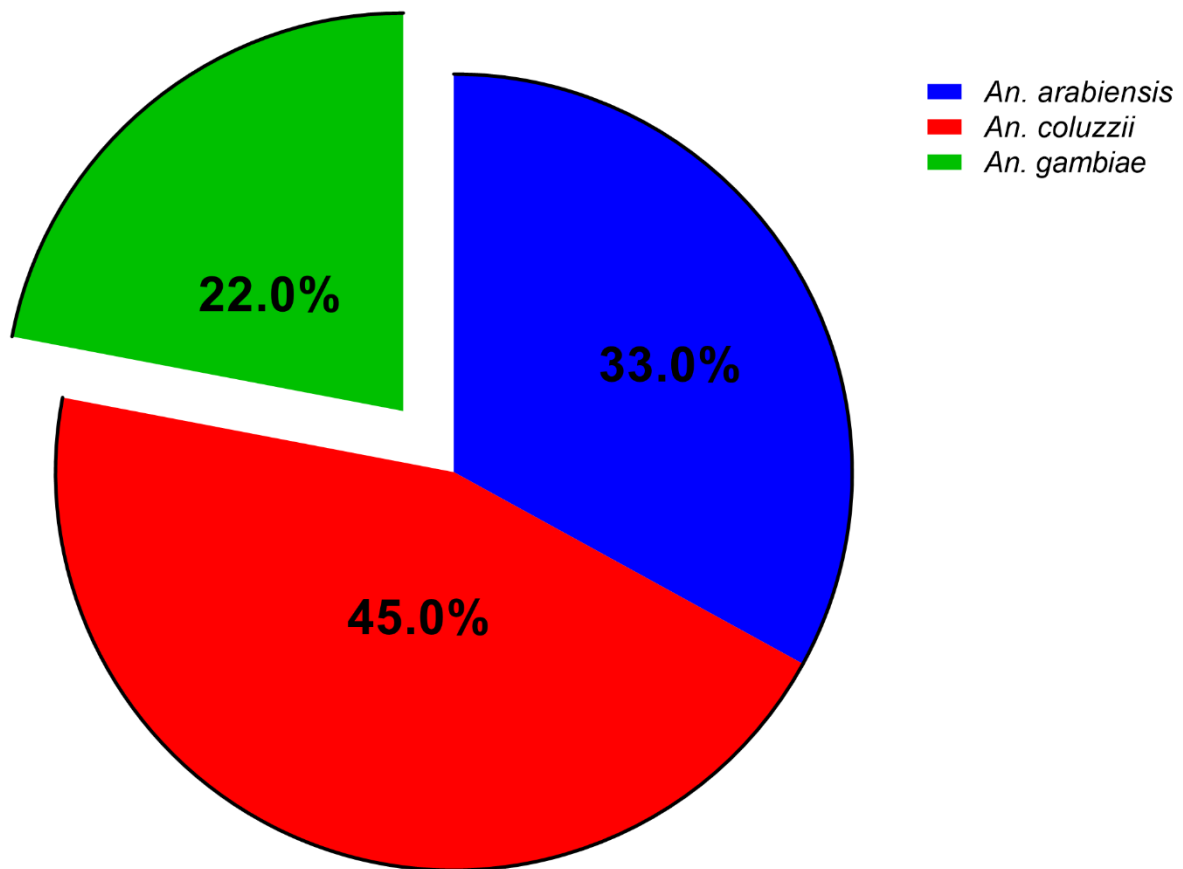


Figure 9 : Pourcentage des espèces d'*An. gambiae* infectées à Ballabougou pendant les cinq années (2012 à 2016).

Cette figure montre que toutes les trois espèces d'*An. gambiae* s.l contribuent à la transmission. Mais, elle est essentiellement assurée par *An. coluzzii* (45,0%), suivi d'*An. arabiensis* (33,0%) et *An. gambiae* (22,0%).

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

6.1. Densité des vecteurs

Durant ces cinq années d'étude nous avons observé de très faibles densité des vecteurs majeurs du paludisme au Mali pendant la saison sèche (de janvier à mai) où les densités moyennes n'atteignaient guère 0,5 moustique par case. Nous avons observé une recrudescence de la densité d'*An gambiae* s.l. quelques semaines seulement après les premières pluies au mois de juin. Ces densités ont continué à s'augmenter au fur et à mesure que l'hivernage s'installait (août à septembre). A partir du mois d'octobre, les densités ont commencé à chuter de nouveau après l'arrêt des pluies pour redevenir très faibles voire indétectables quelques semaines après le tarissement des derniers gîtes larvaires. Ces observations montrent la dépendance des gîtes larvaires avec la pluviométrie et expliquent le caractère saisonnier très marqué du paludisme dans cette zone.

Pendant le mois d'avril (pleine saison sèche) nous observons une brusque et légère augmentation de la densité des vecteurs pouvant atteindre souvent en moyenne 2 moustiques par case. La même observation a été faite par Dao et al, 2014 ; Yaro, 2014 et Samaké, 2015 dans d'autres localités de la zone sahélienne. Samaké en 2015 avait expliqué cette situation par le fait que des moustiques migreraient à la faveur de l'harmatan des zones rizicoles de Niono, où a lieu la culture de contre saison, vers la partie de la zone sahélienne où est situé notre site d'étude.

6.2. Composition des moustiques vecteurs capturés

Nos résultats ont montré la présence des deux vecteurs du paludisme (*An. gambiae* s.l et *An. funestus*) à Ballabougou. *An. gambiae* s.l représentait plus de 99% de la population vectrice, et *An. funestus* ne représentait que moins d'1%. Cette faible fréquence d'*An. funestus* ne pourrait être due qu'à l'absence de gîtes favorables au développement de cette espèce vectrice qui préfère les gîtes profonds et ombrageux. L'existence de cette espèce dans notre site d'étude est fortement compromise du fait de la désertification découlant non seulement de la diminution de la pluviométrie, mais aussi et surtout par les activités humaines comme la coupe abusive des arbres pour le commerce de bois de chauffe et de charbon.

Nous avons observé une très faible fréquence d'*An. funestus* dans notre site d'étude. Ce vecteur n'a pas été rencontré en 2012 et en 2016 et n'a été rencontré en 2013 et 2014 qu'à des fréquences infimes pendant les mois de mars et d'avril. En 2015 *An. funestus* a été observé en début de saison de pluies. La présence d'*An. funestus* est généralement attendue à la fin de la saison de pluies. Sa présence pendant les mois de mars et d'avril (2013-2014) et en début d'hivernage (2015) dans cette localité ne pourrait s'expliquer que par le phénomène de migration de la zone de riziculture irriguée de Niono comme rapporté par Samaké en 2015. En effet cette période de l'année correspond aux stades d'épiaison et de maturation du riz de la culture de contre saison avec des densités élevées d'*An. funestus* dans la zone rizicole de Niono (Dolo G et al., 2004.).

Les trois espèces (*An. coluzzii*, *An. gambiae* et *An. arabiensis*) du complexe *An. gambiae* ont été rencontrées avec des fréquences variables par mois et surtout par saisons. *An. coluzzii* prédominait pendant toutes les saisons, mais ses fréquences les plus élevées ont été observées en saison sèche (88,32% à 100%) comme généralement observé au Mali. *An. gambiae* n'a été observé qu'en saison de pluies avec des fréquences relativement faibles (2,72 à 13,09%) pendant toute la période de notre étude. *An. arabiensis* a été rencontré en saison sèche avec des fréquences très faibles et à la fin de la saison des pluies où ses fréquences pouvaient atteindre 50% pendant certaines années.

Les spécimens d'*An. gambiae* s.l collectés pendant les trois premières semaines suivant les premières pluies que nous pensons être des moustiques « estivants » (Tovi et al., 2010) étaient uniquement composés d'*An. coluzzii*.

La composition de ces différentes espèces d'*An. gambiae* s.l, variait de façon mensuelle et annuelle. Le rythme des pluies peut beaucoup jouer sur la disponibilité et la productivité des gîtes larvaires.

6.3. Infection des moustiques

Nos résultats ont montré que la transmission se passe presque exclusivement pendant la saison de pluies dans notre zone d'étude. En effet, nous avons observé un taux d'infection de 2,13% (138/6475) pendant la période humide de 2012 à 2016 contre seulement 0,05% (1/2078) sur l'ensemble de la période sèche de l'étude. Aucun moustique infecté n'a été obtenu sur les 320 spécimens collectés pendant les trois semaines qui ont suivies les toutes premières pluies. Le seul moustique infecté collecté en période sèche l'a été pendant le mois d'avril qui correspond à la période d'envahissement de la zone par les moustiques venant de la zone rizicole (Samake, 2015). Ceci montre que ce moustique ne serait certainement pas infecté localement. Toutes les trois espèces d'*An. gambiae* s.l ont été retrouvées porteuses de l'antigène sporozoïtique suggérant l'implication de chacune d'elles dans la transmission. Mais 45,0% de la transmission était assurée par *An coluzzii* (4,58%), 33,0% par *An arabiensis* (3.37%) et seulement 22,0% par *An gambiae* (2,24%).

CONCLUSION

7. Conclusion

Il ressort de cette étude qu'*An. gambiae* s.l est le vecteur majeur dans notre zone d'étude et qu'*An. funestus* est presque inexistant. *An gambiae s.l.* est abondant en période hivernale avec des taux d'infection élevés et rare avec des taux d'infection presque indétectable en période sèche.

Toutes les trois espèces d'*An gambiae* s.l. sont impliquées dans la transmission, mais à des degrés variables. L'absence de preuve que le spécimen trouvé infecté en période sèche est d'origine locale, nous laisse penser que les moustiques survivant en saison sèche ne constitueraient pas un réservoir de *Plasmodium* pendant la saison sèche et ne contribueraient donc pas à la réinitialisation de la transmission en début de saison de pluies.

BIBLIOGRAPHIE

8. Bibliographie

1. **Bagayoko M 2000.** Application des Systèmes d'Information Géographique à l'étude micro-épidémiologique de la transmission du paludisme à Bancoumana (arrondissement de Sibi, cercle de Kati). Thèse de Doctorat de spécialité de l'ISFRA. Bamako, Mali.
2. **Bronner U, Divis PC, Farnert A, Singh B 2009.** Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo: Malar J 8(1):15.
3. **Burkot TR, Williams JL, Schneider I 1984.** Identification of Plasmodium Falciparum-Infected Mosquitoes by a Double Antibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assay *. Am J Trop Med Hyg;33(5):783–8.
4. **Carnevale P, Robert V, Impr. Louis-Jean) S, Corbel V, Fontenille D, Garros C, et al 2009.** Les anophèles biologie, transmission du plasmodium et lutte antivectorielle. IRD.
5. **Clements AN 1992.** The biology of mosquitoes. Vol. I. Development, nutrition and reproduction.
6. **Coetzee M, Fontenille D 2004.** Advances in the study of *Anopheles funestus*, a major vector of malaria in Africa. Insect Biochem Mol Biol;34(7):599–605.
7. **Dao A 2005.** Etude comparative des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans différents villages de la préfecture de Kati en zone de savane soudanienne du Mali. Faculté des Sciences et Techniques, sujet de DEA-FAST, Entomologie-Parasitologie.
8. **Dao A, Adamou A, Yaro AS, Maïga HM, Kassogue Y, Traoré SF, et al 2008.** Assessment of alternative mating strategies in *Anopheles gambiae*: Does mating occur indoors? J Med Entomol ;45(4):643–52.
9. **Dao, A., Yaro, A. S., Diallo, M., Timbiné, S., Huestis, D. L., Kassogué, Y., ... Lehmann, T. (2014).** Signatures of aestivation and migration in Sahelian malaria mosquito populations. *Nature*, 516(7531), 387–390. <https://doi.org/10.1038/nature13987>.
10. **Dolo A, Camara F, Poudiougou B, Touré A, Kouriba B, Bagayogo M, et al. 2003** [Epidemiology of malaria in a village of Sudanese savannah area in Mali (Bancoumana). 2. Entomo-parasitological and clinical study]. Bull Soc Pathol Exot ;96(4):308–12.
11. **Dolo G, Briët OJ, Dao A, et al (2004)** Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. Acta Trop 89(2):147–59
12. **Doumbo O, Koita O, Traore SF, Sangare O, Coulibaly A, Robert V, et al 1991.** Les aspects parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme dans le Sahara malien. Med Afr Noire;38(2):103–9.
13. **Fanello C, Santolamazza F, della Torre A 2002.** Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. Med Vet

- Entomol;16(4):461–4.
14. **Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene (P, Kengne P, Antonio-Nkondjio C, Wondji C, et al 2005.** Vecteurs de paludisme : du terrain à la génétique moléculaire Recherches en Afrique Vol. 53
 15. **R., GovoetchanGnanguenon V., Azondékon R., Agossa R F., Sovi A., Oké-Aggbo F., Ossè Razaki. AM 2014.** Evidence for perennial malaria in rural and urban areas under the sudanian climate of Kandinortheastern Benin S Parasites & vectors;7:79.
 16. **Harbach RE 2004.** The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. Bull Entomol Res. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
 17. **Hay SI, Sinka ME, Okara RM, Kabaria CW, Mbithi PM, Tago CC, et al 2010.** Developing global maps of the dominant anopheles vectors of human malaria. PLoS Med 7(2)
 18. **Knols BGJ, Bossin HC, Mukabana WR, Robinson AS 2007.** Transgenic mosquitoes and the fight against malaria: Managing technology push in a turbulent GMO world. Am J Trop Med Hyg;77:232–42.
 19. **Lehmann T, Dao A, Yaro AS, Adamou A, Kassogue Y, Diallo M, et al 2010.** Aestivation of the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae* in the Sahel. Am J Trop Med Hyg
 20. **Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Jul-vez J, Manguin S, Richard-Lenoble D, et al 2004.** * Biodiversité du paludisme dans le monde;428 pp.
 21. **OMS 2003.** Strategies de lutte contre le paludisme dans la region africaine et etapes pour leur mise en oeuvre. Cahiers Techniques AFRO;25: 1-20.
 22. **Programme Nationale Lutte Contre Le Paludisme Au Mali 2018** <http://mail.cnom.sante.gov.ml/docs/pdf/politiquepnlp>.
 23. **Samaké D 2015.** Etude des populations d'*Anopheles gambiae* s.l suivant un transect allant d'une zone irriguée à une zone non irriguée en région sahélienne du Mali. Thèse de Médecine.
 24. **Sangaré D 2000.** Dynamique des populations d'*An. gambiae* s l d'*An. funestus* et de *Plasmodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguebougou (Arrondissement Central de Kati). Thèse de doctorat 3e cycle Entomologie et Parasitologie Médical.

25. **Singh B, Sung LK, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, et al 2004.** A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet*;363(9414):1017–24.
26. **Sinka ME, Bangs MJ, Manguin S, Rubio-Palis Y, Chareonviriyaphap T, Coetzee M, et al 2012.** A global map of dominant malaria vectors. *Parasit Vectors*;5:69.
27. **Sogoba, N. et al. 2007.** Monitoring of larval habitats and mosquito densities in the Sudan savanna of Mali: implications for malaria vector control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77, 82–88
28. **Toure Y 1979.** Bio-écologie des anophèles (Diptera, Culcidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali (village de Banambani). Incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft.
29. **Touré Y et al 1994.** Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae* s.s in Mali, West Africa. *Genetica*;2–3:213–23.
30. **Touré, YT, Dolo G, Petrarca V, Trore, A, Bouare, J, Dao A, et al 1998.** Mark–release–recapture experiments with *Anopheles gambiae* s.l. in Banambani Village, Mali, to determine population size and structure. *Med Vet Entomol.*;12(1):74–83.
31. **WHO | World malaria report 2018:**
<https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2018>.
32. **Wilkes TJ, Matola YG, Charlwood JD 1996.** *Anopheles rivulorum*, a vector of human malaria in Africa. *Med Vet Entomol*;10(1):108–10.
33. **Wirtz RA, Zavala F, Charoenvit Y, Campbell GH, Burkot TR, Schneider I, et al 1987.** Comparative testing of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* sporozoites for ELISA development. *Bull World Health Organ*;65(1):39–45.
34. **Yaro AS, Dao A, Adamou A, Crawford JE, Ribeiro JMC, Gwadz R, et al 2006.** The distribution of hatching time in *Anopheles gambiae*. *Malar J* ;5(1):19.
35. **Yaro AS 2014.** Contribution à l'étude de l'estivation chez *An. gambiae* s.l. et recherche de quelques mécanismes caractéristiques du phénomène en zone soudano-sahélienne au Mali – Thèse doctorat, FAST-Bamako.

ANNEXES

9. Annexes

TECHNIQUE ELISA CSP : détection de l'infection à *Plasmodium falciparum*

1 - Mode opératoire :

- Mettre après découpage les têtes thorax dans les tubes eppendorf de 1,5ml, portant les références des moustiques,
- Ajouter 50µl de B.B.N.P.40 (Nonidetp-40) dans chaque tube, et écraser mécaniquement à l'aide de petits pilons et ajouter 200µl de B.B. pour obtenir un volume final de 250µl dans les tubes,
- Déposer 50µl de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puit d'une plaque de microtitration et laisser incuber pendant 30mn à la température ambiante,
- Verser l'anticorps d'un coup sec puis mettre 200µl de B.B et laisser incuber une heure de temps,
- Aspirer le B.B puis mettre 50µl de chaque broyat de moustique dans les puits correspondants,
- Mettre en même temps les contrôles positif et négatif dans les puits correspondants et laisser incuber pendant 2 heures,
- Aspirer les broyats de moustiques et laver les plaques deux fois avec la solution de lavage (P.B.S+ Tween 20)
- Déposer 50µl d'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puits et laisser incuber pendant une heure,
- Vider l'anticorps monoclonal marqué et laver trois fois les plaques avec la solution de lavage.
- Ajouter 100µl de substrat révélateur (substrat A.B.T.S.) par puits, (**mettre les plaques à l'abri de la lumière**), très important !
- Faire la lecture visuellement à partir de la coloration après 30 minutes :

Remarque : l'intensité de la couleur est fonction de la quantité d'antigènes présents dans chaque puit de positif.

2 - Préparation des solutions :

* Solution d'anticorps monoclonal non marqué :

Pour une plaque, mesurer 5ml de PBS puis ajouter 20µl d'anticorps.

* Solution d'anticorps monoclonal marqué :

Mesurer pour une plaque 5ml de BB puis ajouter 10µl d'anticorps.

*** Solution de B.B. (Blocking Buffer):**

Pour avoir 1 litre de B.B. :

Prendre 100ml de NAOH à 0,1N plus 5g de caséine et faire bouillir l'ensemble tout en agitant. Une fois en ébullition arrêter le chauffage et ajouter petit à petit 900ml de P.B.S. tout en agitant doucement,

Ajouter ensuite le thimersol (0,1g) et le phénol red (0,02g) et laisser refroidir.

Le pH est ensuite réglé à 7,4 par addition de HCl à 0,1N

***Solution révélatrice : Solution d'A.B.T.S. :**

Pour une plaque : prendre 5ml de l'A.B.T.S. peroxydase substrat solution "A" et 5ml de peroxydase substrat Solution "B".

*** Solution de P.B.S. :**

Pour 1 litre de solution prendre 1000 ml d'eau distillée et ajouter 9,65g de phosphatase Buffer saline

*** Solution de lavage :**

Ajouter 500µl de Tween 20 à 1000 ml de P.B.S

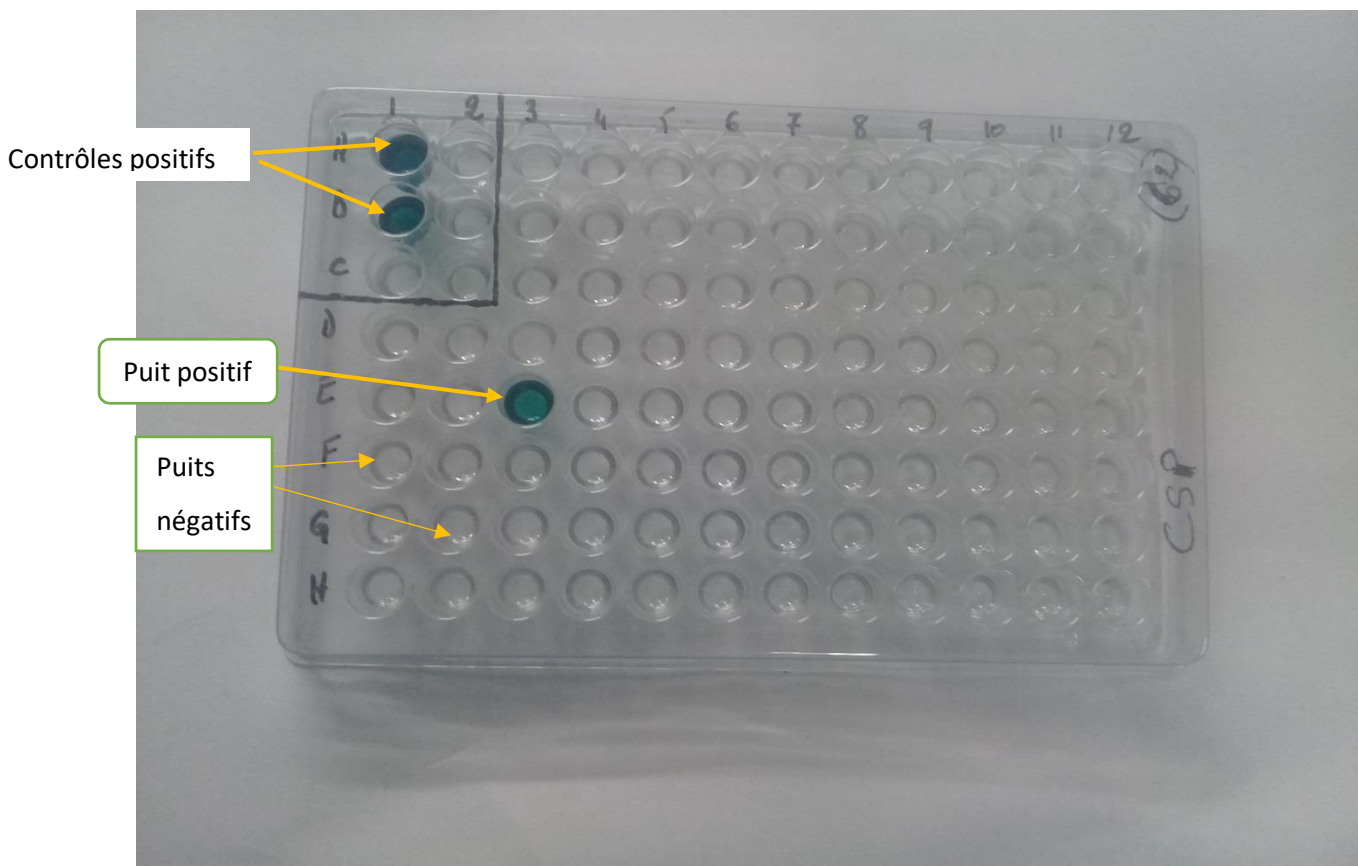


Figure 10 : *Plaque d'ELISA montrant les puits positifs et négatifs.*

Protocole d'extraction de l'ADN chez le moustique

(Méthode "Salt Extraction" Scott et al. 1993,)

- Placer les moustiques individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml ;
- Ajouter 25 µl de Grinding Buffer, et broyer le moustique à l'aide d'un pilon Kontes® jusqu'à ce qu'on voit aucun débris au fond du tube ;
- Laver les pilons avec 25 µl de Grinding Buffer. Placer les pilons contaminés dans 1M HCl; ils seront ensuite rincés dans de l'eau savonneuse, puis à l'eau distillée avant d'être stérilisés pour une prochaine utilisation ;
- Centrifuger brièvement pour faire descendre tout l'homogénat au fond du tube **(important) ;**
- Incuber l'homogénat au bain-marie à 65° C pendant 30 mn ;
- Pendant que les tubes sont encore chauds, ajouter 7 µl d'acétate de potassium à 8moles, mixer ensuite ;
- Incuber sur de la glace pendant 30 mn ;
- Centrifuger à 14000 tours/mn pendant 15 mn dans un micro centrifugeuse et transférer le surnageant dans de nouveaux tubes frais et stériles (lors du transfert, l'embout ne doit pas toucher le culot déposé au fond du tube) ;
- Ajouter 100 µl d'éthanol à 100 % et incuber à la température ambiante pendant 5 mn (on peut arrêter l'extraction à cette étape et reprendre le ultérieurement tout en prenant la précaution de grader les échantillons à - 20° C) et centrifuger à 14000 tours/mn pendant 5 mn ;
- A verser avec précaution l'éthanol 100% sur une serviette en papier et ajouter ensuite 100 µl d'éthanol à 70 %, puis centrifugé à 14000 tours/mn pendant au moins 5 mn. Après cette dernière centrifugation, il faut verser l'éthanol à 70 % sur une serviette en papier. L'ADN apparaîtra sous forme de pellette (tache incolore) au fond du tube. Si

rien n'apparaît, ajouter 100 µl d'éthanol 100% et centrifuger, verser l'éthanol avant de continuer les étapes suivantes ;

- Faire sécher les tubes dans un Speed-Vac ou à l'air libre ;
- Résuspendre l'ADN ainsi obtenu dans 25-50-ou 150 µl de TE (0,05M Tris-HCL, EDTA pH 8,0) ou de l'eau stérile.

Remarque:

- Ajouter 25 µl si la pellette n'apparaît pas au fond du tube ;
- Ajouter 50 µl si la pellette est à peine visible, 100 µl s'il y en a et 150 µl lorsque la pellette est importante.

L'ADN ainsi suspendu, peut être conservé dans un Revco pendant une durée de 6 mois ou plus, dans un congélateur à -20° C. Pour une utilisation à court terme il peut être gardé à 4° C (24h).

Identification des espèces et des formes moléculaires

L'identification des espèces du complexe *An. gambiae* s.l. (*An. gambiae* s.s et *An. arabiensis*), ainsi que celle des formes moléculaires d'*An. gambiae* s.s peut être faite selon le protocole de Fanello et al., 2002.

A. Il faut au préalable préparer la mixture pour l'identification des espèces du complexe *An.*

gambiae s.l. (*An. gambiae* s.s et *An. arabiensis*), comme décrit dans le tableau 1. Ajouter 1 µL de l'ADN aux tubes contenant le volume de mixte ;

Tableau VI : Préparation de mixture d'identification des espèces A & B.

Réactifs	Volume unitaire (µl)
H2O	5.94
Buffer	1.25
DNTPs	2
Mgcl2	1
Gambiae	0.25
Arabiensis	0.25
Universel	0.25
Taq	0.0625
DNA	1
Volume total	12.0025

- ❖ Numéroter les tubes PCR (0.2ml) correspondant au nombre de moustiques à traiter.
- ❖ Relever dans un registre les références (étiquette) du moustique devant le numéro qui lui correspond.
- ❖ Mettre dans chaque tube 24µl de mixture puis 1 µl d'ADN au fond de chaque tube.
- ❖ Utiliser un contrôle positif pour M, A, S et un contrôle négatif
- ❖ Placer les tubes à -20°C et attendre à ce que la solution se congèle.
- ❖ Programmer la machine (programmable thermal Controller) au cycle d'amplification et attendre 94°C.
- ❖ Introduire les micros tubes (0.2) contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions, puis lancer la machine.
- ❖ Attendre à ce que la machine affiche sur l'écran FOR EVER ou 4°C.

Reprogrammer la machine à 37°C et ajouter 0.65µl de l'enzyme de digestion Hha I et attendre 6 heures avant de les faire migrer à l'électrophorèse ou bien de les garder à 4°C pour une migration prochaine

Tableau VII : Dilution de l'Enzyme Hha1 pour une réaction de digestion (Fanello et al., 2002).

	volume (µl)				
	1	10	30	50	100
Réactifs					
Eau stérile	7.75	77.5	232.5	387.5	775
10x react buffer	2	20	60	100	200
Hha1	0.25	2.5	7.5	12.5	25
volume total	10	100	300	500	1000

A la fin de la phase de digestion, retirer les tubes de la machine pour loger les amplifiats dans du gel d'agarose. Les amplifiats doivent être mélangés au bleu de charge (Dye).

-En plus du marqueur de taille moléculaire (**à mettre dans le premier puit de chaque rangée**), il faut mettre :

- Un amplifiat d'un témoin *An. arabiensis* dans le deuxième puit ;
- Un amplifiat d'un témoin forme M dans le troisième puit ;
- Un amplifiat d'un témoin forme S dans le quatrième puit ;

NB : Les DNA témoins doivent être confirmés au préalable. Il est indispensable d'avoir ces témoins pour éviter toute confusion au moment de l'interprétation des résultats.

B. Cycle d'amplification

1. 94 °C pendant 7mn
2. 94 °C pendant 30 s
3. 50 °C pendant 30 s
4. 72°C pendant 30 s
5. 72°C pendant 7mn

6. 4°C température de conservation des amplifiants

Ce cycle est répété 29 fois à partir de l'étape 2.

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

AG (*gambiae*) 5'-CTGGTTTGGTCGGCACGTTT - 3'

AR (*arabiensis*) 5'-AATTGTCCTTCTCCATCCTA - 3'

UN (universel) 5' -GTGTGCCCTTCCTCGATGT- 3'

D. Electrophorèse de L'ADN

Préparation du Gel et Interprétation des bandes

Nous avons préparé un gel d'agarose à 1,5% sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H₂O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophenol) ont été logé par puits.

La migration a été conduite dans un bac électrophorétique à l'aide d'un générateur (Electrophoresis power supply-EP301) sous un courant de 150 volts pendant 1 heure.

Après migration, les bandes ont été visualisées sous une lampe UV et photographiées à l'aide d'une camera quik shooter (IBI, model QSP/Hood # 14, catalog N° 46420).

L'interprétation a consisté à identifier les espèces et leurs formes moléculaires par comparaison de leur taille en base paire (bp) à celle du marqueur moléculaire (100 bp DNA Ladder, Invitrogen Ready load).

Ainsi on a: 367 bp (*An. gambiae* forme M), 257 bp (*An. gambiae* forme S), 292 bp (*An. arabiensis*).

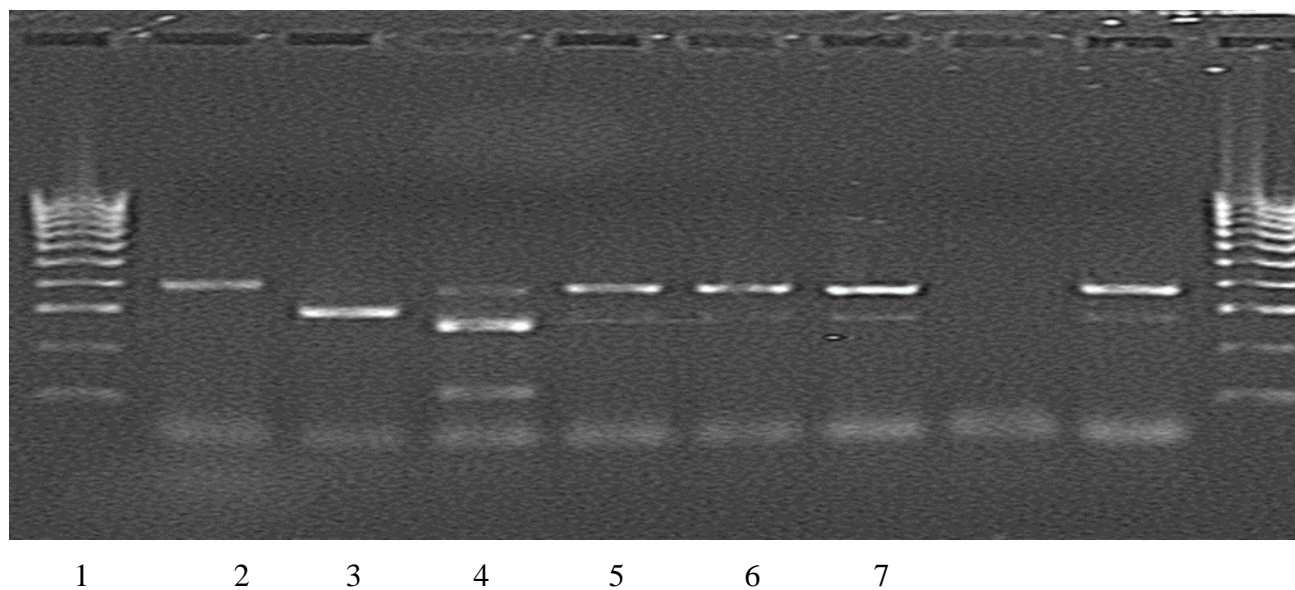


Figure 11 : Photo d'un gel après migration

Légende :

- 1** : marqueur de taille,
- 2** : contrôle M (*coluzzii*),
- 3** : contrôle A (*arabiensis*)
- 4** : contrôle S (*gambiae*)
- 5, 6, 7**: forme moléculaire M (*coluzzii*).

FICHE SIGNALITIQUE

Nom: Yossi

Prénom: Ousmane

Tel: (00223) 77 50 08 51/66 08 40 57/50 47 65 60

Email: yossimrtc@gmail.com

Titre : Suivi de la transmission vectorielle du paludisme dans un village sahélien de 2012 à 2016 au Mali

Année de soutenance : Année universitaire : 2018-2019

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie et de la Faculté de Pharmacie

Secteur d'intérêt : Entomologie et Parasitologie

RESUME

A la fin de la saison de pluies, le tarissement des gîtes larvaires entraîne une diminution considérable des densités voire la disparition des vecteurs du paludisme dans les zones sahéliennes. Cependant, des études ont montré que des adultes d'*An gambiae* s.l. persisteraient tout au long de la saison sèche. Le but de ce travail est de déterminer le niveau de transmission vectorielle du paludisme durant les différentes périodes de l'année enfin de comprendre l'implication des anophèles de la saison sèche dans le maintien de la transmission du paludisme pendant l'arrivée de la saison de pluies en zone sahélienne du Mali.

Les moustiques ont été collectés à l'aide d'aspirateur à bouche dans les habitations humaines pendant tous les mois de l'année de 2012 à 2016. Leurs taux d'infection (taux d'antigène sporozoïtique) ont été déterminés par la technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). L'identification des espèces d'*An gambiae* s.l. a été faite en utilisant la technique moléculaire de polymérisation en chaîne ou PCR.

Les résultats obtenus ont montré que la population vectrice était composée d'*An. gambiae* s.l. (99,7%) et d'*An funestus* (0,3%). *Anopheles coluzzii* était l'espèce la plus fréquente d'*An. gambiae* s.l. (88,3 à 100%), surtout en saison sèche. *An. gambiae* n'a été observé que pendant la saison de pluies avec des fréquences relativement faibles (2,72 à 13,09%). *Anopheles arabiensis* était très rare en saison sèche et présent en saison des pluies à des fréquences allant de 5,01 à 17,16%.

Le taux d'infection moyen d'*An gambiae* s.l. était de 2,13% (138/6475) pendant la saison des pluies contre seulement 0,05% (1/2078) pendant la saison sèche de l'ensemble de la période d'étude. Aucun moustique infecté n'a été observé parmi les 320 spécimens collectés pendant les trois semaines qui ont suivi les toutes premières pluies. *An. coluzzii* était l'espèce ayant montré le taux d'infection le plus élevé (4,56%) suivie d'*An. arabiensis* (3,37%) et *An. gambiae* (2,24%).

Nos résultats ont montré qu'*An gambiae* s.l. est pratiquement le seul vecteur qui assure la transmission dans la zone d'étude. Les trois espèces qui la composent sont toutes impliquées dans la transmission à des degrés divers. L'absence de spécimen porteur de parasite d'origine locale pendant toute la période sèche de l'étude nous laisse penser que les moustiques survivant pendant la saison sèche ne constitueraient pas un réservoir de *Plasmodium* pendant la saison sèche et leur contribution à la réinitialisation de la transmission en début de saison de pluies serait minime.

Mots clés: *An. gambiae* s.l., implication, saisons, transmission, paludisme,

IDENTIFICATION

Last Name: Yossi

First Name: Ousmane

Title: Follow-up of vector transmission of malaria in a Sahelian village from 2012 to 2016 in Mali

Year of defense: 2018-2019

City of defense: Bamako

Country of origin: Mali

Office of registration: The bookstore of Faculty of Medicine, Odonto-Stomatology and Faculty of Pharmacy

Field of interest: Entomology and Parasitology

Abstract

The drying up of breeding site by the end of rainy season is source of major reduction or disappearance of malaria vectors in the Sahelian zones. However, studies have shown that *An gambiae* s.l. adults persist throughout the dry season. The goal of this work was to determine the level of vector transmission of malaria during the different periods of the year and finally to understand the implication of the dry season mosquitoes in malaria transmission maintenance during the rainy season in a Sahelian zone of Mali.

Mosquitoes were collected monthly in human dwellings, using mouth aspirator from 2012 to 2016. Their infection rates (sporozoite antigen rate) were determined by ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). *An gambiae* s.l. species identification was done by PCR.

Results showed that *An. gambiae* s.l (99.7%) and *An. funestus* (0.3%) are the main vectors. *An. coluzzii* (88.3 to 100%) was the most common species of *An. gambiae* s.l, especially in the dry season. *An. gambiae* was only observed during the rainy season with relatively lowest frequencies (2.72 to 13.09%). *An. arabiensis* was very rare in the dry season and present in the rainy season with 5.01 to 17.16% frequencies. For the entire study, the average infection rate of *An gambiae* sl was 2.13% (138/6475) during the rainy season compared to the dry season (0.05% =1/2078). No infected mosquito was found among the 320 specimens collected during the first three weeks after the first rains. *An. coluzzii* showed highest infection rate (4.56%) followed by *An. arabiensis* (3.37%) and *An. gambiae* (2.24%).

Our results suggested that, *An. gambiae* s.l. is the only main vector that ensures transmission in the study area. All three species of *An. gambiae* s.l are involved in the transmission with

different degrees. The absence of local infected specimens throughout the dry season during our study suggests that aestivating mosquitoes would not be a reservoir of Plasmodium during the dry season and their contribution to early transmission resetting during the rainy season would be minimal.

Key words: *An. gambiae* s.l., implication, seasons, transmission, malaria,

SERMENT DE GALIEN

- Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.
- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !