

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE
BAMAKO (USTTB)

FACULTE DE PHARMACIE (FAPH)



Année Universitaire : 2021-2022

Thèse N°



**ETUDE ENTOMOLOGIQUE DES PARAMETRES DE
LA TRANSMISSION DU PALUDISME EN PRELUDE A
UN ESSAI CLINIQUE DE PHASE III DES STATIONS
ATTRACTIVE TOXIC SUGAR BAIT (ATSB) DANS LA
REGION DE KOULIKORO, MALI.**

Thèse présentée et soutenue publiquement le 12/11/ 2022

Devant la Faculté de Pharmacie par

Mme Bintou KANOUTE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

MEMBRES DU JURY

Président : Prof. Mahamadou DIAKITÉ
Membres : Dr Cheick Amadou COULIBALY
Dr Moussa KÉITA
Dr Mohamed Moumine TRAORÉ
Co-directeur : Dr Amadou Sékou TRAORÉ
Directeur : Prof. Guimogo DOLO



FACULTE DE PHARMACIE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Abdoulaye	DABO	Malacologie -Biologie animale
5	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
6	Mouctar	DIALLO	Parasitologie-mycologie
7	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
8	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie humaine
9	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
10	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
11	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
12	Alou A.	KEÏTA	Galénique
13	Mamadou	KONE	Physiologie
14	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
15	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
16	Abdourahmane S.	MAÏGA	Parasitologie
17	Saïbou	MAÏGA	Législation
18	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
19	Mahamadou	TRAORE	Génétique
20	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

PROFESSEURS DECEDES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	CISSE	Biologie
2	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
3	Alassane	DICKO	Santé Publique
4	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
5	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
6	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
7	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
8	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/ Bio-statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
4	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
5	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
6	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
7	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé environnement

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie -Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
17	Dinkorma	OULOQUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
11	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
12	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique Chef de DER
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique
10	Karim	TRAORE	Pharmacologie

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	-	-	-

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée
2	Boubacar	YALCOUYE	Chimie organique

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Moussa I	DIARRA	Biophysique
6	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
7	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
8	Fana	TANGARA	Mathématiques
9	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
10	Mahamadou	TRAORE	Génétique
11	Boubacar	ZIBÉIROU	Physique

Bamako, le 09 juin 2022

**P/Le Doyen PO
Le Secrétaire Principal**



Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

DEDICACES

A ALLAH, le Tout Miséricordieux et le Très Miséricordieux,

Au Prophète Muhammad (sws),

A mes Parents,

Et à mon Époux.

REMERCIEMENTS

Louanges à Allah

Toutes les louanges lui reviennent. Je t'invoque et t'implore ton aide et ta protection contre les vices de mon âme et contre les méfaits de mes actes, car celui qu'**Allah** guide, nul ne peut l'égarer et quant à celui qu'il égare, nul ne peut le guider. J'atteste qu'il n'y a de divinité digne d'être adoré qu'**Allah** seul et sans associer et que le Prophète **Muhammad** (sws) est son serviteur et son messager. Ce travail est le vôtre, car je ne saurais et pourrais rien accomplir sans que vous ne me l'ayez prédestinée et j'ai senti votre omniprésence à chaque moment de ma vie et plus particulièrement lors de l'élaboration de ce travail.

Au bien aimé Prophète Muhammad (sws)

Que la paix et la miséricorde d'Allah soient sur la meilleure des créatures, sur sa famille, ses compagnons et sur tous ceux qui l'auraient suivi jusqu'au jour du jugement dernier, pourvue que nous soyons tous parmi ceux-là. Bien aimé d'Allah, tu es mon repère, mon exemple, mon espoir, ma vie ; ton comportement exempté de toute erreur m'a permis de tenir jusqu'au bout.

À mes parents

Ma chère et tendre mère **Fatoumata PARÉ**, c'est toi qui m'as donnée la vie, m'as chérie, m'as soutenue, m'as éduquée, m'as toujours accompagnée. A travers ton regard, j'ai senti le vrai amour et j'ai toujours reçue le meilleur de toi, que le tout puissant t'accorde également le meilleur d'ici-bas et dans l'au-delà. Tout au long de ma vie, tu as toujours fait et prié pour ma réussite ; ce travail en est juste un exemple, je suis plus qu'honorée de t'avoir comme mère et j'espère que tu seras toujours fière de moi, ta fille bien aimée.

Mon père **Feu Cheickna KANOUTÉ**, j'aurai vraiment voulu un peu plus mieux te connaître car Allah a donné et il a repris. La complicité et l'amour qui existaient entre nous, m'ont toujours servi partout où je suis passée car j'étais, je suis et resterai la prunelle de tes yeux et c'est suffisant. Qu'Allah te pardonne et te fasse miséricorde ainsi qu'à tous nos défunts et facilite également pour nous autres.

À mes frères et sœurs

Mes frères **Zoumana COULIBALY** et **Moustapha TOÉ**, mes conseillers, ce travail est le fruit de tant d'années consenties à ma réussite. Avec l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif, vous m'avez toujours poussée avec ferveur à la curiosité et au travail.

Mes sœurs **Kadidiatou TOÉ, Habiba KANOUTÉ, Hawa et Adama KANOUTÉ**, votre amour, votre confiance et votre patience m'ont toujours conduit à faire plus et mieux encore. Je ne me suis jamais sentie seule grâce à vos soutiens familiaux et je vous suis très reconnaissante pour tous vos conseils que vous m'avez et continuez à me donner. Soyez fières et rassurées de votre merveilleux entretien du lien de sang. Seul le Tout-puissant pourra vous le rendre.

A mon mari

Dr KEÏTA Sidi Seyan, mon compagnon, mon fidèle ami, mon ange gardien sur terre, mon partenaire de tout temps, mon cher et tendre amour que j'aime tant. Ta présence dans ma vie est une bénédiction d'Allah et qu'il fasse que notre amour perdure et demeure dans l'enclave du sien, qu'il nous comble de ses biens faits. Je t'aime et je t'aimerai toujours, de tout mon cœur et de toute mon âme.

Mes remerciements vont également :

À ma chère patrie : Le Mali, qu'Allah veille sur notre cher pays.

À tous mes enseignants de la primaire au lycée.

À tout le corps professoral de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la Faculté de Pharmacie (FAPH).

À Dr Mohamed Moumine TRAORÉ

Merci pour l'opportunité et la confiance cher Maître, que vous avez placé en moi. J'ai énormément appris à vos côtés. Soyez rassuré, que je continuerai à travailler dur afin d'enrichir les connaissances acquises. Que le Tout-puissant vous accorde une longue vie, remplie de bonnes choses uniquement.

À Dr Amadou Sékou TRAORÉ

Merci pour l'accompagnement, la qualité de la formation, la disponibilité, la patience et la considération. Ce travail est le vôtre, recevez ici ma profonde gratitude et mon respect, qu'Allah vous comble de meilleur.

Aux personnels du Centre de Recherche et de Formation sur le paludisme de la Faculté de Médecine, d'Odonto-stomatologie (MRTC/FMOS), je ne citerai pas de nom au risque

d'oublier certains. Tous ont coopéré patiemment aux différentes étapes, dans des conditions souvent pénibles et fastidieuses. Vous avez tous participé à sa réalisation, du fait de vos conseils et vos encouragements. Merci pour votre gentillesse et votre disponibilité. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance. Toute ma sympathie. Ce travail est le vôtre.

À l'unité de Leishmaniose :

Prof Seydou DOUMBIA, Ibrahim M. SISSOKO, Dr Cheick Amadou COULIBALY, Dr Bourama TRAORÉ, Dr Salif THIAM.

À toute l'administration du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC : *University Clinical Reserach Center*) : Prof Seydou DOUMBIA, Prof Mahamadou DIAKITÉ, Cheick Oumar TANGARA, Zeynab SISSOKO.

Merci de m'avoir acceptée et permise de faire cette thèse dans votre magnifique centre. Ce travail est pleinement le vôtre.

À tous les membres d'*Innovative Vector Control Consortium* (IVCC) section entomologie :

Prof Cheick Fantamady TRAORÉ, Prof Seydou DOUMBIA, Dr Mohamed Moumine TRAORÉ, Dr Amadou Sékou TRAORÉ, Dr Sadik KONÉ, Mme TRAORÉ Assan DIAKITÉ, Mme Macalou Rabiataou DIARRA, Dr Issa TRAORE, Dr Penda SANGARÉ, Dr Younoussa ZIGUIMÉ, Dr Alahaye Mahamane MAIGA, Dr Siriman SAMAKÉ, Dr Alou KEITA, Dr Fatoumata Dite Inna TRAORÉ, Gaoussou FOFANA, Mamadou GOITA.

À tous nos chauffeurs et guides des villages

Massa KEITA, Bakary COULIBALY, Boubacar KONATE, Drissa NIARÉ, Oumar DOUMBIA, Amadou TINKYANO, Sékouba CAMARA, Seydou KEITA, Naman KEITA, Balla Moussa KEITA, Bourama CAMARA, merci pour votre disponibilité. Ce fut agréable de travailler avec vous.

À toute la famille KANOUTÉ, PARÉ, COULIBALY, TOÉ, ZERBO et TRAORÉ ainsi qu'à ma belle-famille KEITA

Aucun mot ne saurait exprimer votre encouragement, votre accompagnement et votre respect envers ma personne. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'avez offert sans faille et votre grandeur d'âme incomparable. Que le Bon Dieu vous garde et vous procure santé et bonheur. Amina yarabi !

À mes amis

Kadidja TOURÉ, Arhamatoulaye KANE, Oumou Kulsum HAOUSSA, Bintou COULIBALY, Sana KONATÉ, Ouahan Marie Louise KONÉ, Awa SACKO (N'balima), Mariama DIABATÉ, Nyowa Karine COULIBALY, Dr Fatoumata KONÉ, Mariam TRAORÉ, Alima KONATÉ (Kognonmousso), Dr Fatoumata Sambala DIALLO (grande sœur Nicky), Aminata DIALLO, Fatoumata FOFANA, Mariam SOW, Awa TRAORÉ, Dr Madiba SISSOKO, Dr Souleymane KAMISSOKO, Madani TOURE, Balla KEITA, Mariam KONÉ, Nana Kadidja DIALLO, Mariam SIDIBÉ, Dr Rokia Diallo, Aoua TRAORÉ.

À toute la 12ème promotion (Elimane Mariko) du Numerus clausus section Pharmacie.

À tous les membres de la Ligue Islamique des Élèves et Étudiants du MALI (L.I.E.E.MA).

À tous les membres de l'Association Soninké des Élèves et Étudiants du Mali et sympathisants (AESM SUNPU-KAFO).

À tous les membres de notre chère Amicale des Étudiants en Pharmacie du Mali (AEP-MALI).

À tous ceux qui ont contribué de loin comme de près à la réalisation de ce travail. Recevez mon respect et ma reconnaissance. Que le Tout-puissant vous le rende par bien plus. MERCI.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Mahamadou DIAKITE

DPhil en Immunogénétique,
Vice-Recteur de l'Université des Sciences et Techniques et Technologiques de Bamako,
Chef de l'Unité d'Immunogénétique parasitaire du MRTC-Entomologie,
Directeur Scientifique adjoint du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC),
Secrétaire permanent du Comité National d'Éthique de l'USTTB.

Cher Maître,

C'est un grand honneur que vous nous faites, en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vous êtes dotés d'un grand amour et d'une grande rigueur pour le travail scientifique. Vos qualités morales, sociales et scientifiques accompagnées d'une grande simplicité forcent notre admiration envers vous et font de vous un professeur exemplaire, respecté de tous. Vous nous témoignez l'importance que vous accordez à la formation et au travail bien fait en apportant vos contributions à ce modeste travail.

Cher Maître, permettez-nous de vous exprimer notre grande reconnaissance et notre gratitude.

A notre Maître et juge
Dr Cheick Amadou COULIBALY

Master en Entomologie médicale et vétérinaire,
PhD en Entomologie et Parasitologie médicales,
Chargé de recherche à la Faculté de Pharmacie (FAPH),
Chercheur au Centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC).

Cher Maître,

Vous êtes un homme d'une gentillesse extrême, d'une sympathie sans égale et d'une humilité hors norme. C'est un honneur que vous soyez parmi ce jury, car votre amour du travail bien fait et votre sens élevé du devoir font de vous un Maître extraordinaire.

Acceptez ici notre grande reconnaissance et immense gratitude.

A notre Maître et juge

Dr Moussa KEITA

DEA en Entomologie et Parasitologie médicales,
PhD en Entomologie et Parasitologie médicales,
Maitre-assistant en Entomologie-Parasitologie à la Faculté de Médecine et
d'Odontostomatologie (FMOS),
Chercheur au Centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC).

Cher Maître,

Nous avons admiré la rigueur scientifique avec laquelle vous travaillez et nous avons particulièrement apprécié votre disponibilité. Votre sens élevé d'écoute ainsi que vos immenses qualités humaines font de vous un Maître apprécié.

Permettez- nous aujourd'hui de réitérer notre profonde estime.

A notre Maître et juge
Dr Mohamed Moumine TRAORE

Docteur en Médecine,
Master en Science Environnementale,
Doctorant en Santé communautaire et environnementale,
Assistant de Santé environnement à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)
Chercheur au Centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC),
Chercheur au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC).

Cher Maître,

Votre sagesse, votre humilité, votre courtoisie, l'honnêteté intellectuelle qui vous caractérisent et surtout votre grande culture scientifique, force notre respect et admiration.

Vos qualités humaines, professionnelles ainsi que votre ouverture d'esprit font de vous un Maître exceptionnel.

Trouvez ici cher Maître, notre plus profonde gratitude et reconnaissance.

A notre Maître et Co-directeur de thèse

Dr Amadou Sékou TRAORE

Docteur en Pharmacie,

Master en Entomologie médicale et vétérinaire,

PhD en Entomologie médicale/Biologie des interactions,

Chercheur au Centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC),

Chercheur au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC).

Cher Maître,

La spontanéité dans le travail, la discipline et l'ordre professionnel que vous prodiguez, font de vous un Maître respectable et admirable de tous. Ce travail est le fruit de votre volonté de parfaire et surtout de votre savoir-faire. Nous sommes très fières d'être parmi vos élèves et les mots nous manquent pour vous exprimer toute notre reconnaissance et attachement.

Veillez recevoir ici notre gratitude infinie et nos sincères remerciements. Que le Tout-puissant vous le rende par plus.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Guimogo DOLO

PhD en entomologie-parasitologie médicales,
Responsable de l'enseignement de la génétique à la FMOS,
Chef de l'Unité de Biologie moléculaire du MRTC-Entomologie,
Membre du Comité Sahélien des Pesticides (CILSS),
Membre du *Vector Control Working Group* (VCWG) de *Roll Back Malaria*,
Consultant du Programme Santé de *Health Institut* de l'Université de Columbia.

Cher Maître,

Votre parcours professionnel, vos qualités scientifiques et votre expérience font de vous une référence. Nous vous remercions pour la qualité de l'enseignement reçue et tout ce que vous continuez d'apporter dans le domaine de la recherche.

Recevez l'expression de notre haute considération et notre grand respect.

TABLE DES MATIERES

SIGLES ET ABBREVIATIONS	XIX
LISTE DES FIGURES.....	XX
LISTE DES TABLEAUX.....	XXI
1. Introduction.....	1
2. Objectifs	3
2.1. Objectif général.....	3
2.2. Objectifs spécifiques	3
3. Généralités	4
3.1. Parasite du paludisme et son cycle biologique.....	4
3.1.1. Parasite du paludisme.....	4
3.1.2. Cycle biologique du <i>Plasmodium</i>	4
3.2. Vecteurs	7
3.2.1. Taxonomie	7
3.2.2. Biologie des vecteurs.....	7
3.2.3. Systématiques et distributions des espèces d'anophèles	10
3.3. Lutte antivectorielle.....	12
3.3.1. Limitation du contact hôte/vecteur	12
3.4. Méthodes de collecte des moustiques	17
3.4.1. Capture nocturne sur appât humain.....	18
3.4.2. Capture de jour par aspersion de pyréthrinolide ou spray-catch.....	18
3.4.3. Captures par piège.....	19
3.5. Paramètres entomologiques.....	21
3.5.1. Densité.....	21
3.5.2. Cycle gonotrophique.....	21
3.5.3. Agressivité.....	21
3.5.4. Taux d'infection ou indice sporozoïtique (s).....	22
3.5.5. Taux d'inoculation entomologiques (h).....	22
3.5.6. Taux quotidien de survie (p)	23
3.5.7. Longévité (L)	23
3.6. Identification des espèces vectrices	23
3.6.1. Identification moléculaire des espèces.....	24
3.7. Détection de l'infection à <i>Plasmodium falciparum</i> chez le moustique	28
3.8. Détermination de l'origine du repas sanguin	28
4. Méthodologie.....	29
4.1. Site d'étude.....	29
4.1.1. Kangaba.....	29
4.1.2. Dangassa	30

4.2.	Type d'étude.....	31
4.3.	Période d'étude	31
4.4.	Population d'étude	31
4.5.	Collecte de moustique.....	31
4.5.1.	Capture sur appât humain	31
4.5.2.	Capture de jour par aspersion de pyréthrianoïde ou spray-catch.....	32
4.5.3.	Capture par piège lumineux CDC	33
4.6.	Détection de l'infection <i>Plasmodium falciparum</i>	33
4.7.	Calcul des paramètres entomologiques	33
4.8.	Saisie et analyse des données	35
4.8.1.	Saisie des données	35
4.8.2.	Analyse des données.....	35
4.9.	Considérations éthiques.....	35
5.	Résultats	36
5.1.	Analyse descriptive.....	36
5.1.1.	Répartition de la population d'étude.....	36
5.1.2.	Cycles gonotrophiques et parturité	40
5.1.3.	Agressivité d' <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	45
5.2.	Analyse exploratoire.....	49
5.2.1.	Agressivité de la population d' <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	49
5.2.2.	Taux quotidien de survie et longévité de la population d'étude.....	51
5.2.3.	Infectivité d' <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	53
6.	Commentaires et discussion	55
6.1.	Répartition de la population d'étude	55
6.2.	Cycles gonotrophique et parturité	56
6.3.	Agressivité d' <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	56
6.4.	Taux quotidien de survie et Longévité de la population d'étude.....	57
6.5.	Infectivité d' <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	58
6.6.	Limites de l'étude	58
7.	Conclusion	59
8.	Recommandations	60
9.	Références bibliographiques	61
10.	Annexes	66
	FICHE SIGNALÉTIQUE	68
	SERMENT DE GALIEN.....	70

SIGLES ET ABBREVIATIONS

al., = collaborateurs

An. = *Anopheles*

ATSB = *Attrative Toxic Sugar Bait* ou Appâts de sucre toxiques attractants

CDC = Communicable Disease Center Miniature Light Trap communément dénommé CDC

CDC-UV = piège lumineux à ultraviolet de type CDC

CN = Capture de Nuit

CPS = Chimio prévention du Paludisme Saisonnier

CSP = *Circum Sporozoite Protein* ou Protéine majeure de la surface du sporozoïte

CTA = Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine

ELISA = Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

h = taux d'inoculation entomologique

L= Longévité

ma = Agressivité

MILDA = Moustiquaire Imprégnée d'Insecticide à Longue Durée d'Action

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

P. falciparum = *Plasmodium falciparum*

P. knowlesi = *Plasmodium knowlesi*

P. malariae = *Plasmodium malariae*

P. ovale = *Plasmodium ovale*

P. vivax = *Plasmodium vivax*

P= Taux quotidien de survie

s = Taux d'infection

s.l. = *Sensu lacto* (Sens large)

s.s. = *Sensu stricto* (Sens strict)

TPI = Traitement Préventif Intermittent

USTTB = Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako

UV = Ultra-Violet

% = Pourcentage

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Cycle de vie de Plasmodium (Source : https://planet-vie.ens.fr/sites/default/files/2020-09/Cycle%20Plasmodium%20falciparum_v3.png consulté le 06/07/2021).	6
Figure 2. Cycle biologique d'un anophèle (https://www.biographix.cz/wp-content/uploads/2020/12/anopheles_life-cycle_mh.jpg consulté le 06/07/2021).	7
Figure 3. Répartition géographique des membres du complexe <i>Anopheles gambiae</i> en Afrique (Danis & Mouchet, 1991) actualisée en 2020.	11
Figure 4. <i>Séance de capture de nuit (A= captureur à l'intérieur d'une chambre et B=captureur à l'extérieur d'une chambre)</i>	18
Figure 5. Étalage des draps blancs avant la pulvérisation intra domiciliaire et collecte des moustiques.	19
Figure 6. Piège CDC-UV (Source : https://www.cdc.gov/museum/history/mosquito.html , consulté le 30 août 2021).	20
Figure 7. Différentes étapes de la PCR (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/67/PCR_fr.svg/266px-PCR_fr.svg.png) consulté le 07 septembre 2021	26
Figure 8. Carte des sites d'étude	29
Figure 9. Répartition de la population d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l. par village.....	36
Figure 10. Répartition du total de moustiques collectés en fonction du lieu de collecte.....	38
Figure 11. Répartition du total de moustiques collectés en fonction du lieu de collecte et par village	39
Figure 12. Cycles gonotrophiques de la population d'étude.	40
Figure 13. Répartition de la population d'étude en fonction de la parturité.	43
Figure 14. Répartition de la population d'étude en fonction de la parturité et par village.	44
Figure 15. Courbe d'agressivité de la population d'étude.	45
Figure 16. Agressivité horaire de la population d'étude par village.....	46
Figure 17. Agressivité horaire d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l. en fonction du lieu de collecte.....	47
Figure 18. Agressivité moyenne de la population d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l. par village et par nuit....	49

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau I. Nombre d'An. gambiae s.l. capturé par mois et par village.</i>	<i>37</i>
<i>Tableau II. Cycles gonotrophiques d'Anopheles gambiae s.l par village.....</i>	<i>41</i>
<i>Tableau III. Cycle gonotrophique en fonction des heures de collecte.....</i>	<i>42</i>
<i>Tableau IV. Répartition horaire de la population d'étude en fonction du lieu de collecte et par village.</i>	<i>48</i>
<i>Tableau V. Agressivité nocturne d'Anopheles gambiae s.l. en fonction du mois et par village.</i>	<i>50</i>
<i>Tableau VI. Taux quotidien de survie et longévité d'An. gambiae s.l. par village.</i>	<i>51</i>
<i>Tableau VII. Taux quotidien de survie (p) d'An. gambiae s.l. par village et par mois.....</i>	<i>52</i>
<i>Tableau VIII. Indice sporozoïtique (s) d'An. gambiae s.l. par village et par mois.</i>	<i>53</i>
<i>Tableau IX. Taux d'inoculation entomologique (h) d'An. gambiae s.l. nocturne par village et par mois.....</i>	<i>54</i>

1. Introduction

Causé par un parasite du genre *Plasmodium*, le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante, transmis généralement à l'Homme par la piqûre infectante d'un moustique femelle du genre *Anopheles*. Cinq espèces de *Plasmodium* ont été décrites chez l'homme : *P. falciparum* (Wellch, 1897) la plus dangereuse, *P. malariae* (Laveran, 1881), *P. ovale* (Stephens, 1922), *P. vivax* (Grassi et Feletti, 1890), et *P. knowlesi* (Knowles et Das Gupta, 1930) (1). Ces parasites sont transmis par la piqûre infectante d'un moustique femelle du genre *Anopheles* dont seulement une soixantaine d'espèces sont vectrices sur plus de quatre cent soixante-quatre décrites (2).

Quant aux anophèles assurant la transmission des parasites du paludisme, les plus compétents sont situés en Afrique sub-saharienne et appartiennent à une douzaine d'espèces avec une compétence vectorielle très variable. Les principales espèces sont *An. gambiae s.l.*, *An. funestus*, *An. nili* et *An. moucheti* avec *An. gambiae s.l.* représentant l'espèce la plus répandue et assurant la plus grande part de la transmission du paludisme (2).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre de cas de paludisme a atteint dans le monde, 241 millions en 2020 entraînant 627 000 décès (3). La plupart de ces cas et décès (96%) ont été enregistrées dans la région Afrique de l'OMS (3).

En 2020 au Mali, 7 238 665 cas de paludisme et 19 316 décès ont été enregistrés dans les structures de santé (3). À l'instar de nombreux pays subsahariens, les principaux vecteurs impliqués dans cette transmission au Mali sont membres du complexe *An. gambiae* (abondants surtout en saison pluvieuse) en plus d'*Anopheles funestus* (plus fréquent en saison sèche) (4).

Le paludisme engendre des contraintes sévères par rapport au développement économique et constitue un important facteur de pauvreté dans la plupart des pays où il sévit à l'état endémique (5,6). Le contrôle des vecteurs est l'une des approches efficaces pour diminuer l'incidence du paludisme dans les zones d'endémie (7).

La stratégie nationale de lutte contre le paludisme au Mali est basée sur deux axes :

- i) les mesures préventives à travers le Traitement Préventif Intermittent (TPI) à la sulfadoxine pyriméthamine (SP) chez les femmes enceintes et groupes spéciaux (sujets neufs, immunodéprimés, drépanocytaires, femmes séropositives), la chimio-

prévention du paludisme saisonnier (CPS) chez les enfants de 3 à 59 mois. A ceux-ci s'ajoute la lutte anti vectorielle par la distribution des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée de rémanence gratuitement aux femmes enceintes et aux enfants de 3 à 59 mois, la pulvérisation intra domiciliaire (PID) dans certains districts sanitaires ;

- ii) les traitements curatifs portant sur l'administration des Combinaisons Thérapeutique à base d'Artémisinine (CTA) lors du traitement du paludisme simple et l'utilisation de la quinine par perfusion lors du paludisme grave sur la base des recommandations de l'OMS (8,9).

Malgré leur utilisation, ces outils de prévention et de lutte contre le paludisme font de plus en plus face aux phénomènes de résistance des parasites aux antipaludéens, à la résistance des anophèles vecteurs aux insecticides (10–13) et le changement de comportement de piqûre (de plus en plus à l'aube ou au crépuscule lorsque les populations ne sont pas protégés par les moustiquaires ; et de plus en plus à l'extérieur) (14,15). Face à ce constat, l'OMS recommande le développement des nouveaux outils de prévention ou de stratégies de lutte alternatives permettant de compléter ou de renforcer l'action de ceux déjà existant (16).

Un des outils innovants dans la lutte antivectorielle est l'utilisation des appâts attractifs toxiques à base de sucre (ATSB : Attrative Toxic Sugar Bait), piégeant principalement les ressources énergétiques (repas de sucre) indispensables aux moustiques imagos dans l'accomplissement de bons nombres de leurs activités biologiques (essaimage, recherche d'hôte, ponte etc.). Leur principe est basé sur l'attraction des moustiques puis leur mort par ingestion des ATSB. Les ATSB sont de plus en plus promis à une utilisation universelle pour le contrôle des anophèles vecteurs dans les nouvelles stratégies d'élimination du paludisme. Mais avant, une étude expérimentale de phase III est nécessaire afin d'évaluer l'efficacité, l'acceptabilité et la durabilité des ATSB dans les conditions naturelles.

Cette présente étude s'inscrit dans le cadre d'une grande étude de phase III portant sur 80 clusters suivis mensuellement. Afin de la rendre représentative des 80 clusters, un tirage aléatoire de 7 villages permettant de représenter l'ensemble des clusters a été réalisé.

Nos travaux de thèse portent ainsi sur la première partie du protocole de phase III portant sur la détermination des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme en prélude à une implémentation des ATSB.

1. Objectifs

1.1. Objectif général

Évaluer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme en prélude à un essai clinique de phase III sur les stations ATSB.

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la composition de la faune culicidienne ;
- Déterminer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme (densité, cycles gonotrophiques, taux quotidien de survie, agressivité, taux d'infection, taux d'inoculation entomologique et longévité).

3. Généralités

3.1. Parasite du paludisme et son cycle biologique

3.1.1. Parasite du paludisme

Le *Plasmodium* est un parasite protozoaire appartenant au phylum des *Apicomplexa*, à la classe des *Aconoidasida*, à l'ordre des *Haemosporida* et à la famille des *Plasmodiidae*. Son cycle de vie se déroule en 2 phases : une chez l'homme et l'autre chez certaines espèces de moustiques (20,21). On compte cinq espèces de *Plasmodium* (également appelées *Plasmodies*) qui sont pathogènes pour l'Homme : *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et le *P. knowlesi* infectant aussi les singes et sévissant en Asie du Sud-Est. Parmi ces espèces, *P. falciparum* est le plus répandu dans la plupart des régions tropicales (2) et responsable du plus grand nombre des cas graves et de décès liés au paludisme (22).

Les *Plasmodium* responsables du paludisme humain sont généralement transmis accidentellement à l'Homme par la piqûre de moustique femelle du genre *Anopheles*, lors de leur repas de sang nécessaire pour la maturation de leurs œufs. Les moustiques mâles, à la différence des femelles se nourrissent uniquement de nectar de plante (23) et ne transmettent donc pas le paludisme ; seuls les femelles assurent la transmission des parasites du paludisme à l'Homme (24).

3.1.2. Cycle biologique du *Plasmodium*

Le *Plasmodium* pour assurer son développement et sa multiplication (cycle de vie) passe par trois phases : une chez le moustique (cycle sporogonique) ; et les deux autres chez l'hôte humain (le cycle érythrocytaire dans les hématies humaines et le cycle exo-érythrocytaire en dehors des hématies) (Figure 1.) (21).

3.1.2.1. Cycle sporogonique (chez le moustique)

En piquant une personne infectée, le moustique femelle ingère les hématies (globules rouges) contenant des gamétocytes avec le repas de sang pris. Ces hématies s'éclatent dans le tube digestif de l'insecte et libèrent les gamétocytes qui se développent par la suite, puis passent au stade sexuel mature en devenant des gamètes. Les gamètes mâles et femelles s'unissent pour former un zygote qui se développe en ookinète mobile, pénètre dans la paroi de l'estomac du moustique et se transforme en oocyste sphérique. À l'intérieur de l'oocyste, le noyau se divise à répétition, formant un grand nombre de sporozoïtes et entraînant un grossissement de

l'oocyste qui se rompt et libère les sporozoïtes dans la cavité générale du corps du moustique (l'hémocèle), après leur développement complet. Ces sporozoïtes migrent alors vers les glandes salivaires. Le temps nécessaire pour le développement des sporozoïtes est en général de 8 à 15 jours selon l'espèce plasmodiale, l'humidité et la variation de la température. Les sporozoïtes une fois au stade infectant, se mélangent à la salive du moustique et sont injectés à un hôte humain lorsque le moustique prendra un autre repas sanguin (21,22,24–26).

3.1.2.2. Cycle exo-érythrocytaire et érythrocytaire (chez l'hôte humain)

Chez l'hôte humain, le cycle de vie du parasite débute par la pénétration des sporozoïtes dans la circulation sanguine par la piqûre de moustique femelle infectée. Ces sporozoïtes sont rapidement acheminés vers le foie où ils se multiplient dans les hépatocytes conduisant à un développement intrahépatique qui (par prolifération et différenciation) aboutit à la libération des mérozoïtes, qui à ce stade, ont adopté une morphologie citronnée, capable d'infecter les érythrocytes (27). Les mérozoïtes, une fois dans la circulation sanguine, envahissent les hématies et subissent un développement intra érythrocytaire passant par différentes étapes (anneau, trophozoïte et schizonte) afin d'aboutir à la naissance de nouveaux mérozoïtes. Certains de ces nouveaux mérozoïtes qui sont libérés suite à la lyse des érythrocytes iront infecter de nouveaux érythrocytes (27,28) tandis que d'autres se développeront en gamétocytes qui seront ingérés par un moustique femelle lors de l'ingestion d'un autre repas de sang humain (27).

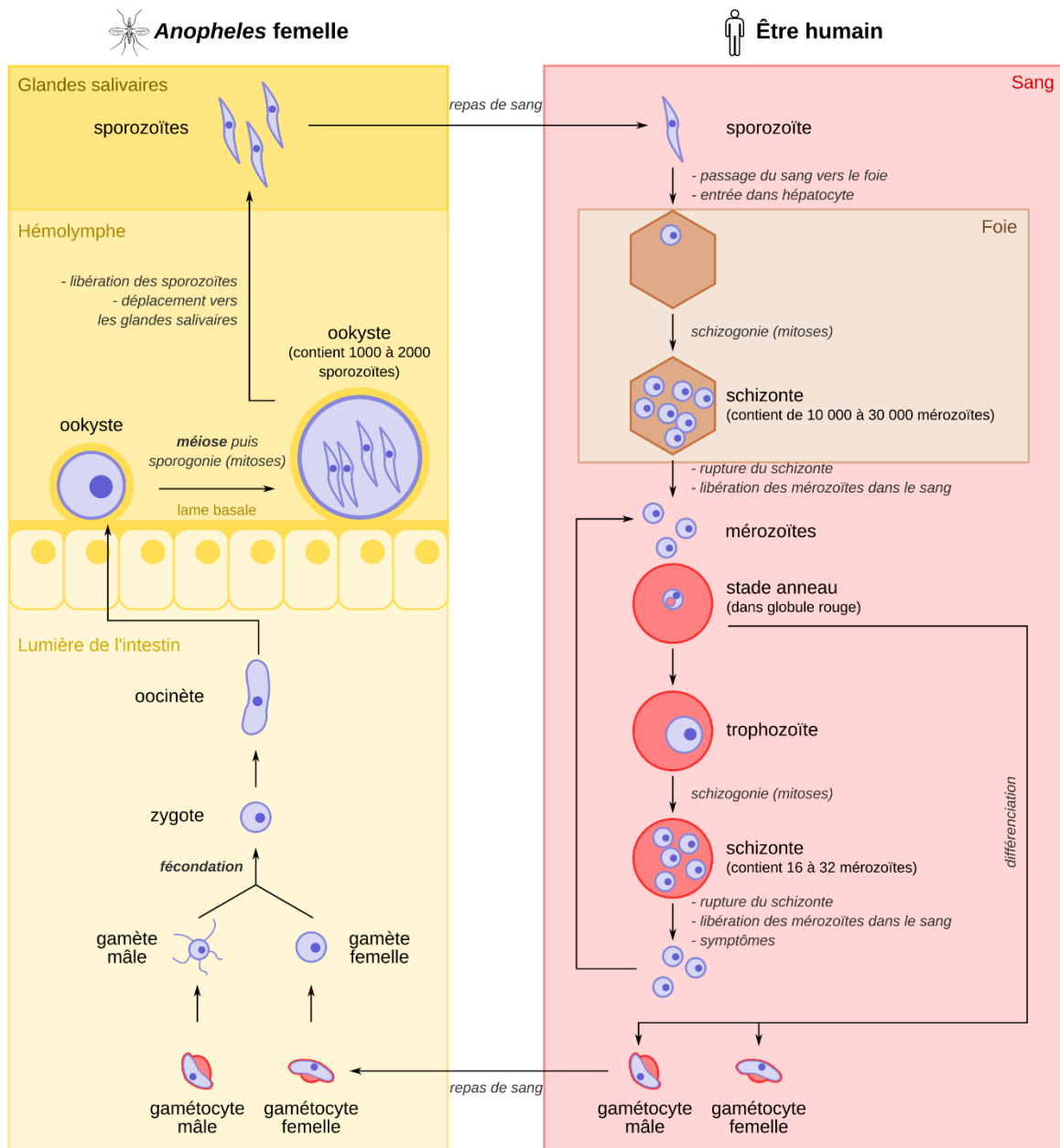


Figure 1. Cycle de vie de *Plasmodium* (Source : https://planet-vie.ens.fr/sites/default/files/2020-09/Cycle%20Plasmodium%20falciparum_v3.png consulté le 06/07/2021).

3.2. Vecteurs

3.2.1. Taxonomie

Les moustiques qui transmettent le parasite à l'être humain appartiennent au phylum des *Arthropoda*, à la classe des *Insecta*, à l'ordre des *Diptera*, au sous-ordre des *Nematocera*, à la famille des *Culicidae* et à la sous-famille *Anophelinae* (29) et genre *Anopheles*. Le genre *Anopheles* regroupe 68 espèces vectrices du *Plasmodium* (2).

3.2.2. Biologie des vecteurs

Le cycle de vie des anophèles est caractérisé par la succession de deux phases : i) la première est aquatique et recouvre la vie pré imaginaire, c'est-à-dire l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe ; ii) la seconde est aérienne et concerne l'adulte ou imago (30,31) (Figure 2.). Au cours de son cycle biologique, les moustiques subissent deux métamorphoses : de la larve à la nymphe et de la nymphe à l'adulte (24,30,31).

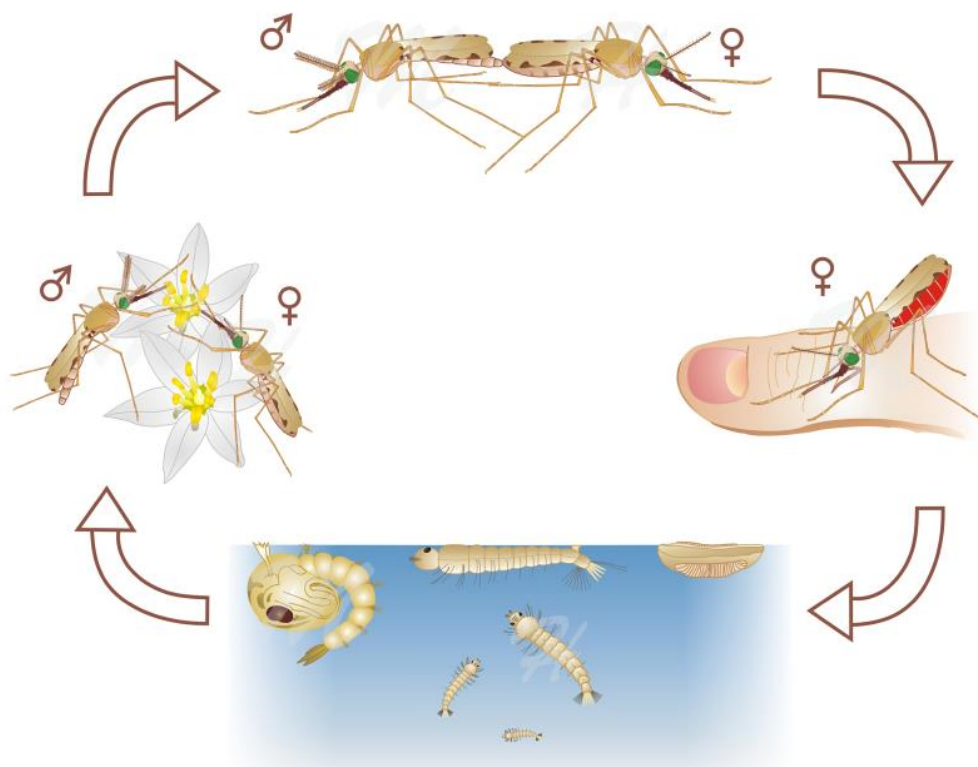


Figure 2. Cycle biologique d'un anophèle (https://www.biographix.cz/wp-content/uploads/2020/12/anopheles_life-cycle_mh.jpg consulté le 06/07/2021).

3.2.2.1. Œufs

L'anophèle femelle ne s'accouple normalement qu'une seule fois dans sa vie et a généralement besoin d'un repas de sang après l'accouplement pour la maturation des œufs (2). Elle prend en général des repas de sang tous les deux ou trois jours, avant la ponte suivante. Elle dépose à chaque ponte entre 100 et 150 œufs environ à la surface de l'eau (2,21). Ces œufs, pondus isolément, sont munis de flotteurs et restent en surface durant l'embryogenèse (30). Chaque espèce d'anophèle préfère pondre dans un type d'environnement aquatique particulier (gîte larvaire ou gîte de reproduction). Ces gîtes peuvent être des petites empreintes de pas, de sabots d'animaux ou des roues, des flaques d'eau de pluie, de cours d'eau, des marécages, des canaux, des rivières, des mares, des lacs, des rizières etc.

3.2.2.2. Larves

D'un œuf éclot une larve du premier stade L1 au bout d'un à deux jours après la ponte. La larve aquatique se nourrit en filtrant les débris organiques et les micro-organismes de l'eau de surface, s'accroît et mue chaque 1 jour ou 2 puis passe au second stade L2, puis au troisième stade L3, puis termine par le quatrième stade L4 (30). La larve reste au quatrième stade pendant 2 à 3 jours, avant de devenir une nymphe. La durée totale du stade larvaire est en général de 8 à 10 jours aux températures normales de l'eau en milieu tropical (2). À des températures plus basses, le développement des stades aquatiques prendra plus de temps. Selon l'espèce, on peut trouver des larves dans de petites collections d'eau, de l'eau douce, des rizières, de l'eau courante à l'ombre, de l'eau saumâtre, de l'eau salée, des cours d'eau, des étangs, des lacs, des marais, des puits, des récipients d'eau, des boîtes de conserve jetées, des pneus jetés et des empreintes de sabots d'animaux (21).

3.2.2.3. Nymphes

À ce stade, une transformation particulière se produit : la nymphose qui libère une nymphe aquatique mobile, en forme de virgule qui ne s'alimente pas, reste sous la surface de l'eau et plonge au fond si elle est dérangée. Le stade nymphal dure de 2 à 3 jours, après quoi le tégument se fend (2).

3.2.2.4. Adultes

Une deuxième transformation particulière survient ; de la nymphe émerge un adulte (ou imago) mâle ou femelle qui se repose temporairement à la surface de l'eau pour sécher ses ailes avant de prendre son envol. C'est au cours de cette phase aérienne que s'effectue une seule fois l'insémination par le mâle de la femelle où cette dernière reçoit suffisamment de spermatozoïdes qu'elle va stocker dans sa spermathèque. Ces spermatozoïdes garderont leur pouvoir fécondant jusqu'à la mort de la femelle (2,30). Les anophèles imagos ont une morphologie particulière qui permet de les reconnaître rapidement. Au repos, ils adoptent généralement une position oblique par rapport au support. Cette position les différencie facilement des autres *Culicinae* qui se positionnent parallèlement au support. L'adulte comporte trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (2).

Les habitudes d'alimentation et de repos des moustiques jouent un rôle très important pour les programmes de lutte antivectorielle et doivent donc être bien comprises. La plupart des anophèles piquent la nuit, certains peu après le coucher du soleil tandis que d'autres piquent plus tard, au milieu de la nuit ou même tôt le matin. Certains moustiques pénètrent dans les habitations pour piquer, on dit alors qu'ils sont endophages tandis que d'autres piquent surtout à l'extérieur et sont qualifiés d'exophages.

Après son repas de sang, le moustique se repose en général pendant une courte période. Les moustiques qui se reposent dans une maison habituellement sur un mur, sous le mobilier ou sur les vêtements pendus sont appelés endophiles. Quant aux moustiques qui se reposent à l'extérieur en général sur les plantes, dans des trous, dans les arbres, sur le sol ou dans d'autres endroits frais et sombres, ils sont qualifiés d'exophiles.

Les préférences trophiques, c'est-à-dire le choix de l'hôte, varient selon les espèces. Certains moustiques piquent de préférence l'Homme et sont appelés anthropophiles à l'opposé, ceux qui prennent leur repas de sang sur les animaux sont appelés moustiques zoophiles. Ceux qui préfèrent le sang humain sont les plus dangereux, car ils sont capables d'infecter les populations humaines.

3.2.3. Systématiques et distributions des espèces d'anophèles

Il existe plusieurs espèces d'anophèles dont certaines d'entre elles sont impliquées dans la transmission du paludisme selon différentes régions. En Afrique tropicale, on trouve les espèces du complexe *An. gambiae*, du groupe *An. funestus*, du complexe *An. nili* et du complexe *An. moucheti* (2). Quant aux espèces assurant la transmission du paludisme au Mali, elles sont principalement constituées par certaines espèces du complexe *An. gambiae* et celles du groupe *An. funestus* (32).

3.2.3.1. Complexe *An. gambiae*

Les différentes espèces du complexe *An. gambiae* ont en commun une morphologie très semblable, voire identique. Elles constituent des espèces jumelles ou cryptiques. Les déterminations à l'intérieur du complexe *An. gambiae* se fondent essentiellement sur 3 critères qui sont les critères de reproduction en insectarium, les critères cytogénétiques et les critères moléculaires (2). Ce complexe regroupe 9 espèces : *An. amharicus*, *An. arabiensis*, *An. bwanbae*, *An. coluzzii*, *An. gambiae*, *An. melas*, *An. merus*, *An. quadriannulatus* (33) et récemment *An. fontenillei* décrit au Gabon (34). Parmi les membres du complexe *An. gambiae* les principaux vecteurs sont *An. gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis*. Ces trois vecteurs représentent les espèces les plus répandues et assurent la plus grande partie de la transmission du paludisme contrairement aux autres espèces qui ont un rôle nul ou faible dans la transmission du paludisme. Parmi les espèces du complexe *An. gambiae*, *An. gambiae* et *An. arabiensis* ont une plus vaste distribution en Afrique et sont rencontrées dans la quasi-totalité de l'Afrique subsaharienne non méridionale (Figure 3.). La plus adaptée aux zones de forêt et de savane humides étant *An. gambiae* contrairement à *An. arabiensis* plus rencontrée dans des environnements plus secs jusqu'aux bordures du Sahara (35,36).

3.2.3.2. Groupe *An. funestus*

L'espèce *An. funestus* est très répandue dans toute l'Afrique subsaharienne et est considérée comme le second vecteur majeur de *Plasmodium* humains après les membres du complexe *An. gambiae*. Le groupe *An. funestus* regroupe 28 espèces dont 3 de ses 5 sous-groupes sont entièrement ou partiellement présents en région afrotropicale. De ce fait, le sous-groupe Funestus dénombre 5 espèces : *An. funestus*, *An. aruni*, *An. confusus*, *An. parensis* et *An. vaneedeni* ; le sous-groupe Rivulorum contient 4 espèces : *An. rivulorum*, *An. rivulorum-like*, *An. brucei* et *An. fuscivenosus* ; et enfin le sous-groupe Minimus qui comporte 8 espèces dont

seule *An. lesoni* est l'espèce afro-tropicale. Ces espèces sont peu étudiées et la seule réellement vectrice de *Plasmodium* est *An. funestus* (2). *An. funestus* est moins abondante en zone de forêt et beaucoup plus présente en zone de savane (37). Son développement pré-imaginal se fait dans les gîtes plus ou moins permanents d'eaux douces profondes et claires ombragées par la végétation (bordures de lacs, bords creux de rivières). Ce vecteur est anthropophile et très endophile.

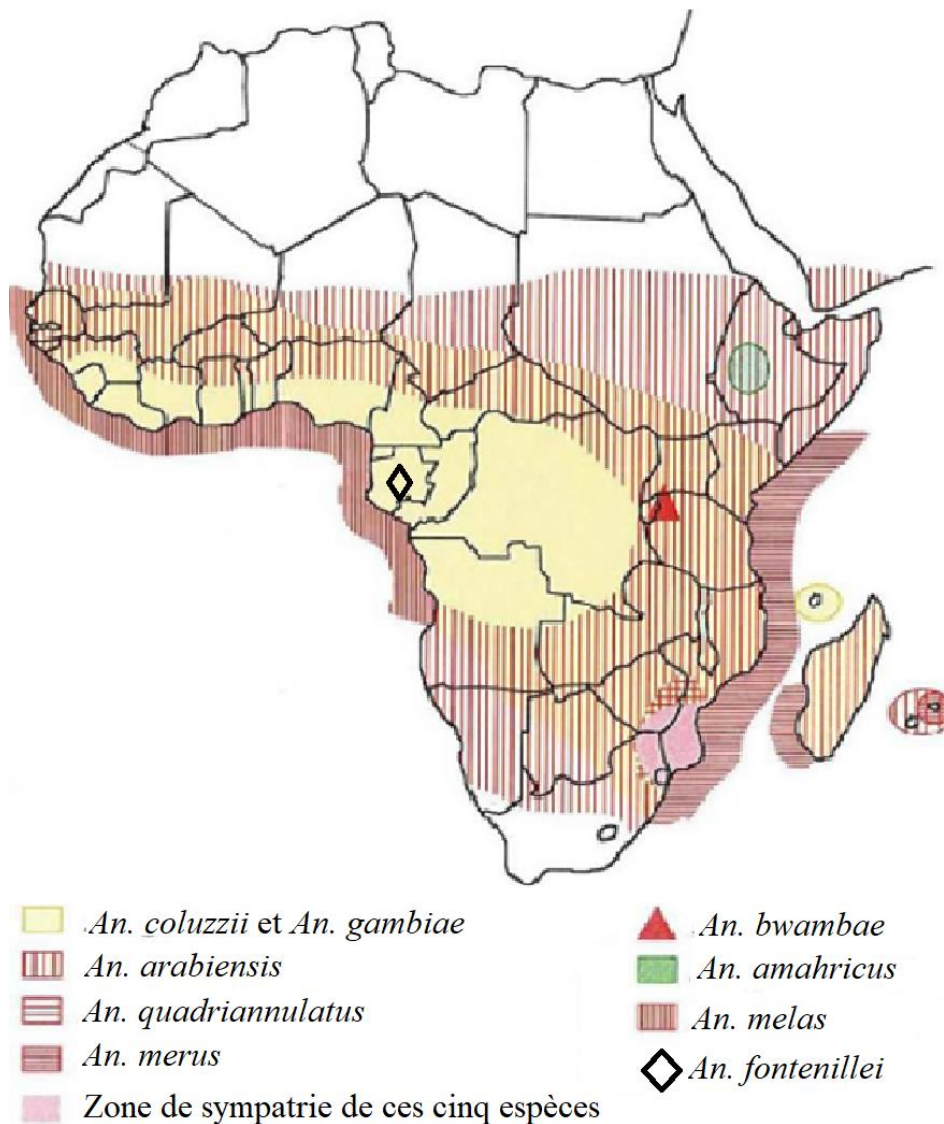


Figure 3. Répartition géographique des membres du complexe *Anopheles gambiae* en Afrique (Danis & Mouchet, 1991) actualisée en 2020.

3.3. Lutte antivectorielle

La lutte antivectorielle est l'approche principale pour prévenir le paludisme et réduire sa transmission. Pour assurer une lutte antivectorielle efficace afin de protéger un grand nombre de population se trouvant dans différentes situations, l'OMS recommande deux principales méthodes : l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) et la pulvérisation d'insecticide à effet rémanent à l'intérieur des habitations (PIH) (38). Les méthodes de lutte antivectorielle peuvent être classées de différentes manières selon :

- Les techniques : il existe plusieurs qui sont :
 - Les méthodes biologiques (poissons larvivores, champignons, etc.) ;
 - Les méthodes physiques (par changements de l'environnement, utilisation de moustiquaires et grillages de fenêtres, etc.) ;
 - Les méthodes chimiques (larvicides, aspersion intradomiciliaires, les moustiquaires imprégnées et les pulvérisations spatiales).
- Les effets ou buts recherchés : limitation du contact hôte/vecteur ou action sur la densité ou action sur la longévité (2).

La classification selon les effets sur le plan épidémiologique est très intéressante et permet de considérer particulièrement 3 options : la limitation du contact hôte/vecteur, la lutte anti larvaire et la lutte anti-adulte.

3.3.1. Limitation du contact hôte/vecteur

Elle consiste à empêcher le contact entre l'Homme et le vecteur par l'utilisation des outils tels que les moustiquaires (imprégnées ou non), des grillages au niveau des portes et des fenêtres, des rideaux imprégnés et d'autres fermetures des points d'entrée etc., pour assurer une protection au niveau des maisons et enfin l'utilisation des répulsifs en application cutanée, en vêtements imprégnés ou en des serpentins fumigènes (39).

3.3.1.1. Lutte anti larvaire

Elle cible les larves de moustique en les tuant directement dans leur habitat avant qu'elles ne deviennent des adultes. Pour un contrôle larvaire efficace il faudrait avoir les gîtes limités en nombre, très facilement identifiables, accessibles et traitables. Il serait d'une grande portée dans les zones à population humaine dense avec peu de gîtes, pendant les périodes de

sécheresse dans les zones endémiques quand les gîtes sont bien délimités et traitables, dans les camps de refuges, dans les zones à risque de paludisme et à faible pluviométrie (2,24).

Comme exemples de lutte anti larvaire, on peut citer :

3.3.1.1.1. Lutte physique

Elle modifie intentionnellement un biotope dans le but de faire disparaître ou réduire par des moyens physiques ou mécanique les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent.

On y distingue :

- Le **drainage** : il consiste à utiliser un drain pour permettre aux eaux du gîte d'être évacuer vers un milieu naturel. Cette technique a l'avantage d'acheminer rapidement les eaux et d'entraîner les œufs et les larves dans le courant vers des milieux défavorables à leur développement ou leur destruction rapide est assurée.
- La **mise en boîte des eaux** : elle est utilisée dans le cas de gîte important se trouvant loin d'un récepteur naturel puisqu'elle s'obtient par la concentration des eaux dans les tranchées afin de pouvoir réduire la superficie du gîte à empoisonner.
- Le **comblement** : Il consiste à éliminer les gîtes de petites superficies, et de profondeur moyenne à l'aide de matériaux (pierres débris de construction).
- Le **boisement** : Il s'agit de la plantation d'arbres, Eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eaux à faible débit (2,40).

3.3.1.1.2. Lutte biologique

Elle consiste à utiliser des organismes vivants, prédateurs des œufs, larves, pupes et adultes de moustiques. Ces agents biologiques sont généralement des parasites, des prédateurs, des pathogènes etc. Les plus utilisés dans le cadre de l'élimination naturelle des larves de moustiques sont :

- **Poissons larvivores**

Ces poissons se nourrissent des larves de moustiques. Les principales espèces utilisées sont *Gambusia affinis* ou poisson à moustique (plus efficace dans les eaux claires), *Poecilia reticulata* ou *Guppy* (utilisée dans les eaux polluées de matières organiques) (41,42).

La dernière supporte des températures élevées, convient donc mieux aux rizières des pays chauds que la première qui ne peut survivre qu'à des températures inférieures à 10°C (2,21).

- **Bactéries larvicides**

Ces bactéries produisent des toxines qui tuent les larves après ingestion. Il en existe plusieurs, parmi lesquelles sont généralement utilisées :

- La bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) est plus efficace dans l'eau propre. Elle ne représente aucun danger pour les autres insectes, poissons, hommes et animaux supérieurs aux doses normales et suivant la formulation employée. Son désavantage est que sa densité l'entraîne au fond du gîte alors que les larves d'anophèles se nourrissent en surface (43).
- La bactérie *Bacillus sphaericus* produit une toxine dont les effets sont semblables à celui du *Bti* mais plus efficace dans les eaux polluées (44).

3.3.1.1.3. Lutte chimique

Elle consiste à utiliser des composés chimiques qui tuent les larves et les pupes de moustiques. Leur usage se fait sur des gîtes larvaires qui ne peuvent être drainés ou comblés ou lorsque les autres méthodes de contrôle s'avèrent trop onéreuses ou impossibles. Il existe plusieurs sortes de larvicides chimiques :

- Le pétrole et ses dérivés : utilisés pour les eaux stagnantes impropres à l'irrigation ou à la consommation par les animaux. Ils forment un film à la surface de l'eau, empêchant les larves de respirer.
- Les insecticides chimiques : dont les principales familles utilisées sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrines/pyréthrinoïdes.

3.3.1.2. Lutte contre les adultes

Elle cible uniquement les moustiques adultes. Ce sont des moyens de lutte entraînant une diminution de la densité des moustiques et/ou du contact entre le vecteur et l'Homme que ce soit dans le but d'assurer une protection collective (avec l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII), la pulvérisation d'insecticide à effet rémanent à l'intérieur des habitations (PIH) etc.) ou individuelle.

3.3.1.2.1. Pulvérisations intra domiciliaires

Les pulvérisations intra domiciliaires à l'aide d'insecticides à effet rémanent constituent encore un outil de lutte antivectorielle puissant destiné à réduire ou à interrompre la transmission du paludisme. L'application continue d'insecticides à grandes échelles ne peut être pérennisée à cause du coût, de la résistance acquise par le vecteur et des risques pour l'environnement. Ces pulvérisations ne peuvent être employées avec succès que lorsque la majorité des vecteurs est endophile, la population vectrice est sensible aux insecticides choisis et une fraction importante des maisons ou des structures situées dans les aires opérationnelles offrent des surfaces pulvérisables (2,21,24,45,46).

3.3.1.2.2. Moustiquaires et autres supports traités par insecticides

Dans de nombreux pays la mise en œuvre d'une politique de distribution et d'utilisation de moustiquaires imprégnés d'insecticide à longue durée d'action (MILDA), fait partie d'une approche intégrée de contrôle du paludisme. Toutefois, leur mise en place nécessite une adaptation aux conditions locales. En tant qu'outil de prévention et de lutte contre le paludisme, cette politique est fondée sur un certain principe de base : la protection personnelle dans les groupes à haut risque, le contrôle de la transmission avec pour cible un taux de couverture de la population en MILDA élevé et dépassant les 80%. Les moustiquaires traitées aux pyréthriinoïdes à cause de leur effet excito-répulsif sur la plupart des espèces vectrices protègent plus que les moustiquaires non traitées. Les rideaux, les hamacs traités avec les pyréthriinoïdes réduisent le contact Homme-vecteur (2,21,24,45,46).

3.3.1.2.3. Amélioration de l'habitat humain

Elle permet d'empêcher l'entrée des moustiques et leur repos à l'intérieur des habitations. 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 (2,21,24,45,46).

3.3.1.2.4. Répulsifs

Les répulsifs existent sous forme de crème, de lotion, de serpent fumigène (spirale), d'aérosol etc. Certains répulsifs peuvent être appliqués directement sur la peau ou sur les vêtements. L'usage des répulsifs est une mesure de protection individuelle (2,21,24,45,46). Les spirales sont très populaires et largement utilisées. Elles brûlent lentement et régulièrement pendant 6 à 8 heures, libérant l'insecticide dans l'air qui tue ou éloigne les moustiques à distance (2,21,24,45,46).

3.3.1.2.5. Vêtements protecteurs

L'utilisation de certains vêtements couvrant la plus grande partie du corps fournit un certain niveau de protection personnelle contre les piqûres de moustiques (35,36).

3.3.1.2.6. Lutte génétique

Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites (35,36) .

3.3.1.2.7. Appâts attractants toxiques à base de sucre ou ATSB

Les appâts attractants toxiques à base de sucre (ATSB : *Attractive Toxic Sugar Bait*) font partie des outils innovants dans la lutte anti vectorielle, piégeant principalement les ressources énergétiques (repas de sucres) indispensables au bon déroulement de la vie des moustiques adultes.

En effet, l'environnement est riche en différentes sources de sucre attractives qui attirent les moustiques comme les nectars floraux, les fruits endommagés ou en décomposition etc. Ce principe de piégeage est donc basé sur l'attraction des moustiques puis leur mort après ingestion des ATSB. Les ATSB se composent généralement d'un composant de sucre comme stimulant alimentaire (sucre roux), d'un attractif à base de fruits, de fleurs ou de jus de fruits (dattes, goyaves, mangues...), d'un insecticide à faible risque (Dinotéfurane 1%) et d'un conservant (pour éviter que le produit ne se dégrade plus rapidement). L'un des atouts des ATSB est qu'ils sont fabriqués à partir d'ingrédients facilement disponibles et peu coûteux dans les zones tropicales et subtropicales où le paludisme sévit, pouvant ainsi contribuer à réduire les dépenses engendrées par cette maladie.

Dissuader un comportement ou induire la mortalité des insectes et/ou des petits animaux à l'aide d'un appât n'est pas un concept nouveau, il a été utilisé en 77 ans après Jésus Christ comme mentionné dans le « *Naturalis Historia* » par Pline l'Ancien en 1669 (47). L'utilisation des appâts sucrés toxiques (TSB) pour attirer les moustiques vecteurs afin de les éliminer s'est rapidement développée au cours des 60 dernières années. L'idée des ATSB est d'utiliser cette méthode ancestrale comme moyen innovatrice de lutte anti vectorielle axée sur la transmission à l'extérieur et surtout comme moyen efficace de contrôle des moustiques dans la transmission du paludisme. L'un des grands avantages des ATSB est qu'ils sont fabriqués à partir d'ingrédients facilement disponibles et peu coûteux dans les zones tropicales et subtropicales où le paludisme sévit, pouvant ainsi contribuer à réduire les dépenses engendrées par le paludisme.

Les ATSB ont été utilisés avec succès dans de nombreuses études expérimentales dans la lutte contre les anophèles vecteurs (17), d'autres culicidés (18) et d'autres insectes (19). Au Mali, les premières études expérimentales de phase II effectuées à Sévaré et Konna ont montré une forte diminution de la densité des moustiques. Une seconde étude, randomisée de phase II dans 14 villages du cercle de Kangaba dans la région de Koulikoro a démontré l'efficacité des ATSB contre les mâles et les femelles d'*An. gambiae s.l.* indépendamment des sources de sucre concurrentes. En outre, cette étude a montré qu'une seule application d'ATSB pouvait influencer de façon significative les paramètres entomologiques dont la longévité des vecteurs du paludisme.

3.4. Méthodes de collecte des moustiques

Il existe plusieurs méthodes de collecte des moustiques sur le terrain que les entomologistes utilisent en fonction de la zone de collecte, du moustique, de la localisation, de la période d'étude, de l'objectif ou du devenir des spécimens. Ces méthodes peuvent être des captures d'adultes nocturnes sur l'homme ou sur un animal, par piège lumineux, dans les essaims, des collectes de larves ainsi que la récolte de la faune anophélienne matinale. Cette dernière méthode consiste à récolter tôt le matin les moustiques au repos dans les chambres. Elle utilise généralement deux procédés : récolte après aspersion de pyréthrine et dérivés (spray catch) et la récolte directe sur les parois intérieures des murs à l'aide d'un aspirateur à bouche (48). Chacune de ces méthodes a ses avantages et ses inconvénients et le choix d'une d'entre elles, dépend des objectifs de l'étude, de l'environnement et des moyens disponibles (49).

3.4.1. Capture nocturne sur appât humain

Elle est une méthode de capture qui s'effectue généralement le soir ou la nuit (entièrement ou une partie), simultanément à l'intérieur et à l'extérieur des habitations humaines selon l'objectif de l'étude. Elle nécessite une équipe de deux personnes ou plus, qui sont généralement munies d'une lampe à torche électrique, d'un aspirateur à bouche, d'un gobelet en carton, d'une caisse en bois et d'une serpillière mouillée. Les captureurs s'asseyent, découvrent leurs jambes jusqu'aux genoux, tout en capturant les moustiques se posant sur eux, avant qu'ils ne prennent leur repas sanguin. Cette méthode demande énormément de rigueur car la mesure est donc davantage avec la pose des moustiques qu'avec leur piqûre. Ceci permet de déterminer le taux d'agressivité en différente tranche horaire de la nuit, par village et par saison (50).



Figure 4. Séance de capture de nuit (A= captureur à l'intérieur d'une chambre et B=captureur à l'extérieur d'une chambre).

3.4.2. Capture de jour par aspersion de pyréthrianoïde ou spray-catch

Elle consiste à pulvériser l'intérieur des chambres tôt le matin à l'aide d'un aérosol à base de pyréthrianoïde afin de tuer les moustiques se reposant sur les murs, puis à les récoltés à l'aide de draps blancs préalablement étendus à terre ou sur les meubles de l'habitation. Les données

obtenues permettent de calculer les paramètres tels que : la densité, l'agressivité ainsi que le taux d'inoculation entomologique (Figure 5.). Les moustiques obtenus par spray-catch sont identifiés morphologiquement et si nécessaire par la technique moléculaire de réaction polymérisation en chaîne (PCR).



Figure 5. *Étalage des draps blancs avant la pulvérisation intra domiciliaire et collecte des moustiques.*

3.4.3. Captures par piège

Presque tous les moustiques ont un phototactisme positif. Cette propriété rend possible l'échantillonnage des populations de moustiques pendant la nuit. L'utilisation de pièges lumineux permet d'obtenir des données sur l'abondance des moustiques et leur composition spécifique dans une localité donnée. Le piège lumineux est l'une des techniques utilisées durant la collecte des échantillons. Il existe les pièges lumineux (CDC : *Communicable Disease Center Miniature Light Trap*) simple, les pièges lumineux CDC-UV, les pièges lumineux à gaz carbonique.

3.4.3.1. Piège lumineux CDC-UV

Ce piège permet la capture d'un nombre important de moustiques par rapport aux autres insectes et souvent plus de femelles que de mâles (Figure 6.). Il permet l'échantillonnage de la faune culicidienne et comporte le plus souvent, deux dispositifs principaux :

- Une source lumineuse (ultraviolet) destinée à attirer les moustiques, soutenue par un ventilateur qui les pousse vers le récipient collecteur. Plusieurs sources lumineuses peuvent être utilisées comme les lampes à vapeur de mercure, à lumière corrigée ou non, à incandescence, à ultraviolet ;
- Un récipient collecteur en tulle moustiquaire qui permet de collecter les moustiques.

L'ensemble du dispositif est alimenté par des accumulateurs généralement constitués par des batteries rechargeables de 6 volts. La lampe située dans le manchon sous le ventilateur attire les insectes jusqu'au col de l'appareil. De là, la dépression engendrée par l'hélice d'un petit ventilateur leur fait franchir la longueur du manchon jusqu'à la nacelle de tulle. Ils y restent prisonniers sous l'influence du courant d'air. Ce piège doit être posé au moins une heure avant le coucher du soleil car certains moustiques sont actifs au crépuscule et être relevé au lever du soleil.



Figure 6. Piège CDC-UV (Source : <https://www.cdc.gov/museum/history/mosquito.html>, consulté le 30 août 2021).

3.5. Paramètres entomologiques

Il existe plusieurs paramètres entomologiques permettant d'évaluer et de classer la transmission entomologique du paludisme. Parmi les plus utilisés on a : la densité, le cycle gonotrophique, le taux de survie quotidien, l'agressivité, le taux d'infection, le taux d'inoculation entomologique, la longévité etc.

3.5.1. Densité

La densité s'obtient par le rapport entre le nombre d'espèces considérées et le nombre total de chambres prospectées ou de pièges installés.

m (densité anophélienne) = nombre d'anophèles collectés / nombre de chambres ou de pièges

3.5.2. Cycle gonotrophique

Il correspond à l'ensemble des phénomènes physiologiques qui se produisent chez le moustique femelle entre la prise du repas sanguin et la ponte. Il peut être déterminé en dénombrant le nombre de dilatation relictuelle folliculaire sur les différents ovarioles, ce qui implique des dissections fines des ovaires et leur observation minutieuse au microscope en amont. Chaque dilatation signe le passage d'un œuf mûr donc un cycle gonotrophique complet (Polovodova, 1949).

3.5.3. Agressivité

Ce paramètre correspond au nombre de piqûres d'une espèce donnée de moustique, reçu par l'Homme à l'intérieur et/ou à l'extérieur des habitations humaines pendant une période déterminée. La connaissance de ce paramètre permet de préciser les lieux et périodes de risques maximums de transmission afin d'adapter des pratiques individuelles de prévention, et/ou de planifier des opérations de lutte adaptées aux comportements des vecteurs considérés.

ma (densité anophélienne agressive pour l'homme, ou taux de piqûres, estimée en nombre de piqûres d'anophèle par unité de temps).

$$ma = m \cdot (TA/l)$$

Avec m = densité anophélienne

a = nombre de sujets humains piqués en 1 jour par 1 anophèle femelle et il correspond au rapport taux d'anthropophilie (TA) /durée du cycle gonotrophique (l) exprimée en jours (soit $a = TA/l$).

$$TA = (\text{nombre d'anophèles femelles gorgées et semi-gravides positif à ELISA repas de sang}) \times 100 / (\text{nombre total d'anophèles femelles gorgées et semi-gravides testé à ELISA repas de sang})$$

L'agressivité peut être obtenue à travers 2 autres formules selon la méthode de collecte :

- **Par aspersion de pyréthrianoïde** : nombre total d'anophèles femelles gorgées et semi-gravides capturé dans une chambre, divisé par le nombre de personnes ayant dormi dans la chambre la nuit précédente.

$$ma = \frac{(\text{nombre d'anophèles femelles gorgées et semi-gravides})}{\text{nombre de dormeurs}}$$

- **Par capture nocturne** : nombre total d'anophèles femelles jeun capturées, divisé par le nombre de captureurs.

$$ma = \frac{(\text{nombre d'anophèles femelles jeun})}{\text{nombre de captureurs}}$$

3.5.4. Taux d'infection ou indice sporozoïtique (s)

C'est le nombre d'anophèles femelles portant des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires par le nombre total des moustiques disséqués ou testés à l'ELISA.

$$s = \left[\frac{(\text{nombre de moustiques portant au moins un sporozoïte})}{(\text{nombre total de moustiques testé})} \right] \times 100$$

3.5.5. Taux d'inoculation entomologiques (h)

Il représente le nombre de piqûres infectantes reçu par l'Homme et par unité de temps (nuit, mois, ou année). Il est égal à l'agressivité multipliée par le taux d'infection.

$$h = m a . s$$

3.5.6. Taux quotidien de survie (p)

C'est le pourcentage ou la probabilité de moustiques qui survit quotidiennement. Il est déterminé par la formule :

$$p = \frac{l}{\sqrt{\frac{P}{(NP + P)}}}$$

Avec P = nombre de femelles pares ; NP = nombre de femelles nullipares dans l'échantillon examiné et l = durée moyenne du développement gonotrophique.

3.5.7. Longévité (L)

Elle représente l'espérance de vie des femelles anophèles. En effet, il faut au moins 10 à 12 jours pour que s'accomplisse le développement sporogonique complet de *P. falciparum* dans les conditions climatiques normales en Afrique. Ainsi, pour qu'une femelle anophèle puisse transmettre les sporozoïtes (formes infectantes du *Plasmodium*), il faut que la longévité soit supérieure à la durée du développement sporogonique.

La longévité est la base du calcul du risque de propagation du paludisme et s'énonce selon Macdonald (51) comme suit :

$$L = \frac{1}{-lnp}$$

où p = la probabilité quotidienne de survie

3.6. Identification des espèces vectrices

Il existe différentes techniques pour identifier les anophèles dont les plus utilisées sont :

- **Identification morphologique** : utilisant des clés d'identification basées sur les différences de forme, de taille, de coloration, de présence ou d'absence de structures sur le corps de l'anophèles ;

- **Identification cytogénétique** : basée sur l'étude d'inversions paracentriques de chromosomes polytènes (grands chromosomes) chez les larves L4 « mature » ou chez les femelles semi-gravides.
- **Identification moléculaire** : basée sur les techniques de biologie moléculaires (voir ci-dessous).

3.6.1. Identification moléculaire des espèces

Elle se compose de plusieurs étapes qui sont : l'extraction d'acide désoxyribonucléique (ADN), l'amplification (ou PCR) et la révélation sous UV après migration.

3.6.1.1. Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN est une étape très importante, elle permettra d'obtenir des ADN en qualité et en quantité. Elle est très déterminante même pour l'appréciation des résultats de l'amplification ou PCR. De ce fait, il faut utiliser un protocole d'extraction approprié et il en existe plusieurs.

3.6.1.2. Réaction de polymérisation en chaîne (ou *Polymerase Chain Reaction* : PCR)

La PCR ou réaction de polymérisation en chaîne est une méthode de biologie moléculaire au cours de laquelle un nombre important de copies identiques est obtenu, à la suite de la multiplication d'un fragment ou d'une séquence d'ADN ou d'ARN connu(e), par plusieurs duplications en utilisant des amorces spécifiques. Depuis sa mise au point en 1985 par Kary Bank Mullis (52), la PCR est sans doute l'une des techniques les plus importantes ayant révolutionnées l'histoire de la biologie moléculaire ce qui a valu à son auteur le prix Nobel de chimie en 1993. Elle se base sur une propriété commune à toutes les ADN polymérases qui permet de synthétiser un brin complémentaire à partir d'une amorce en connaissant au préalable la séquence que l'on souhaite amplifier. Le choix de deux amorces oligonucléotidiques synthétiques capables de s'hybrider (ou s'apparier) à l'ADN cible et leur utilisation pour réaliser des cycles de polymérisation, assureront la multiplication exponentielle de la séquence encadrée par ces amorces (53).

Chaque cycle de PCR s'effectue en 3 étapes (Figure 7.) :

- **Dénaturation thermique de l'ADN à 95°C** : Séparations des « matrices doubles brins en simples brins » ;

- Bornage : pour cibler l'amplification sur la région ADN souhaitée à l'aide d'amorces PCR spécifiques appelé **hybridation des amorces à 50-65°C** ;
- Amplification PCR : étape de polymérisation du brin complémentaire appelée **élongation des amorces** en brins complémentaire à **72°C**.

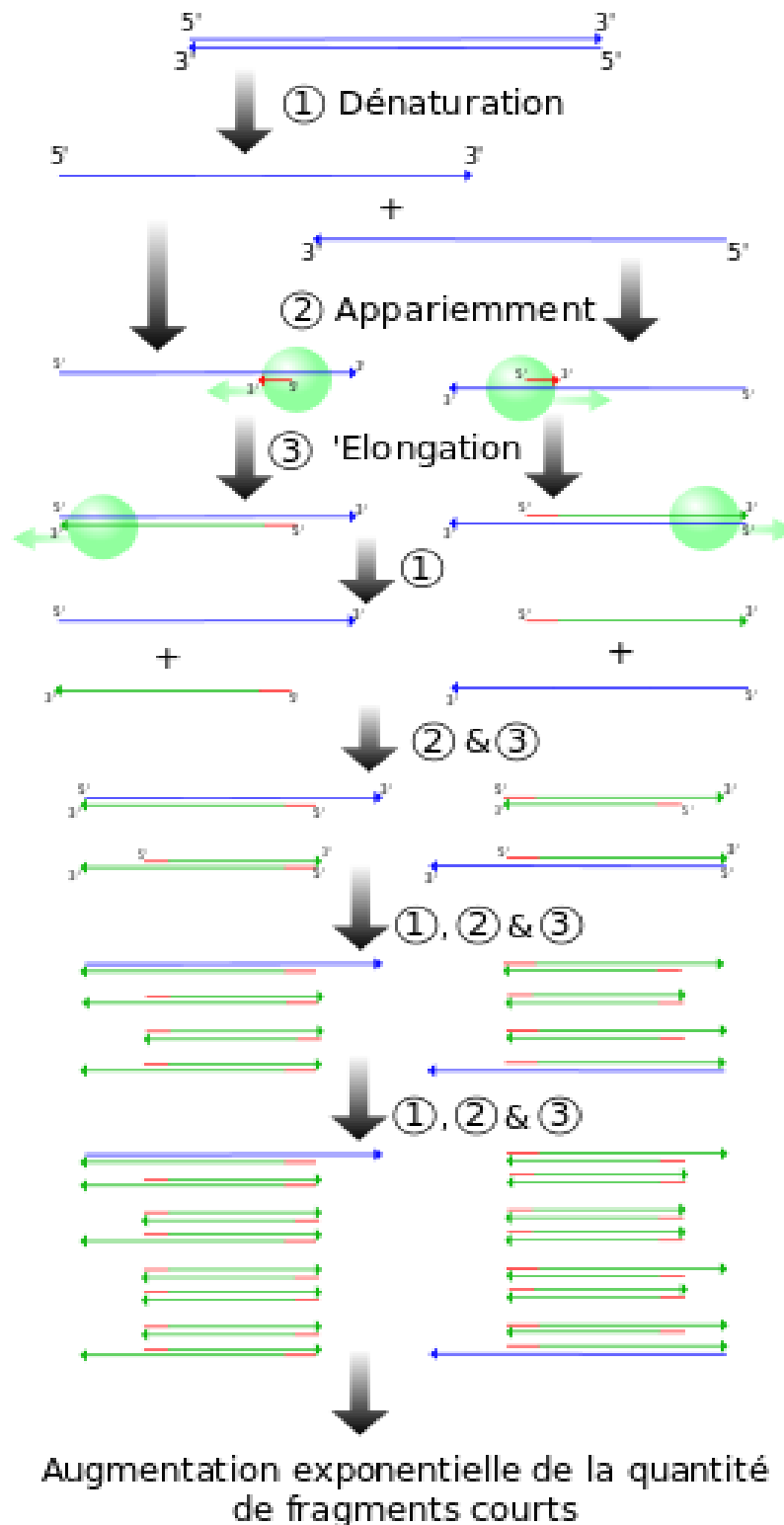


Figure 7. Différentes étapes de la PCR (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/67/PCR_fr.svg/266px-PCR_fr.svg.png) consulté le 07 septembre 2021.

Il existe différentes techniques de PCR dont les plus utilisées sont :

- **PCR classique** : c'est la plus simple et la moins onéreuse des autres techniques de PCR. Elle a pour but d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence cible et est basée sur le mécanisme de réplication de l'ADN. La double hélice d'ADN est déroulée en ADN monocaténaire, puis dupliquée et réenroulée à travers des cycles répétitifs qui comprennent les trois phases du cycle du déroulement de la PCR (dénaturation de la matrice d'ADN, hybridation ou appariement des amorces et extension ou élongation des amorces en brins complémentaires). A la fin de chaque cycle, les brins d'ADN nouvellement formés servent de matrice dans le prochain cycle jusqu'à l'augmentation et l'accumulation exponentielle des séquences d'ADN cibles. Elle nécessite un gel d'agarose pour visualiser les résultats à la fin de la réaction.
- **PCR en temps réel ou PCR quantitative (qPCR)** : c'est un dérivé de la PCR classique qui permet de suivre en temps réel la quantité d'ADN contenue dans la réaction. Ceci demande une mesure de la quantité totale d'ADN tout au long de la réaction d'où le terme « en temps réel » grâce à un marqueur fluorescent après chaque cycle d'amplification (54). Elle est la plus sensible et la plus rapide des autres techniques mais est coûteuse.
- **PCR nichée ou Nested PCR** : elle consiste à réaliser deux amplifications successives dont le produit (amplifié) de la première réaction est utilisé dans la deuxième afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité (55). Elle requiert beaucoup plus de temps, de réactifs et augmente les risques de contamination comparé à la PCR classique.
- **Reverse Transcriptase ou la RT-PCR** : elle permet de travailler à partir d'ARN qui est rétrotranscrit par une transcriptase inverse (ADN polymérase ARN dépendante) en brin d'ARN complémentaire. Ainsi les ADN nouvellement formés (ADNc) seront amplifiés par PCR.

3.6.1.3. Migration et révélation sous UV

C'est la dernière étape de l'identification moléculaire. Il s'agit de l'électrophorèse de l'ADN amplifié sur du gel agarose à un ampérage et voltage bien déterminés pendant une unité de temps à la suite de laquelle une révélation sous UV permet de visualiser la différence de taille de bande des ADN (par paire de base).

3.7. Détection de l'infection à *Plasmodium falciparum* chez le moustique

Elle consiste à détecter la présence ou l'absence du parasite (dans notre cas de *Plasmodium falciparum* chez la femelle *An. gambiae s.l.*).

Trois méthodes sont généralement utilisées pour la mise en évidence de l'infection des anophèles par le *Plasmodium* :

- **Dissection des glandes salivaires** : qui permet de mettre en évidence la présence ou non des sporozoïtes (forme infectante) du *Plasmodium* ;
- **Méthodes enzymatiques (ELISA)** : ELISA ou « *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* » est ici, une technique immuno-enzymatique qui permet de visualiser par une réaction antigène-anticorps colorée mettant en évidence, la présence de la protéine CSP (*Circumsporozoite Protein*) du *Plasmodium* ;
- **Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)** : on peut utiliser différents types de PCR ; une PCR nichée ou RT-PCR.

3.8. Détermination de l'origine du repas sanguin

Elle consiste à déterminer l'origine du repas de sang par la méthode enzymatique (ELISA) "Blood meal" décrite par Beier et collaborateurs (56).

4. Méthodologie

4.1. Site d'étude

L'étude s'est déroulée dans sept (7) villages dont cinq (5) (Djiguidala, Krikrou, Sambada, Ticko et Ouoronina) situés dans le cercle de Kangaba et deux (2) (Solonkorein et Balala) dans l'aire de santé de Dangassa du district sanitaire de Ouléssebougou tous dans la région de Koulikoro, 2^{ème} région administrative du Mali.

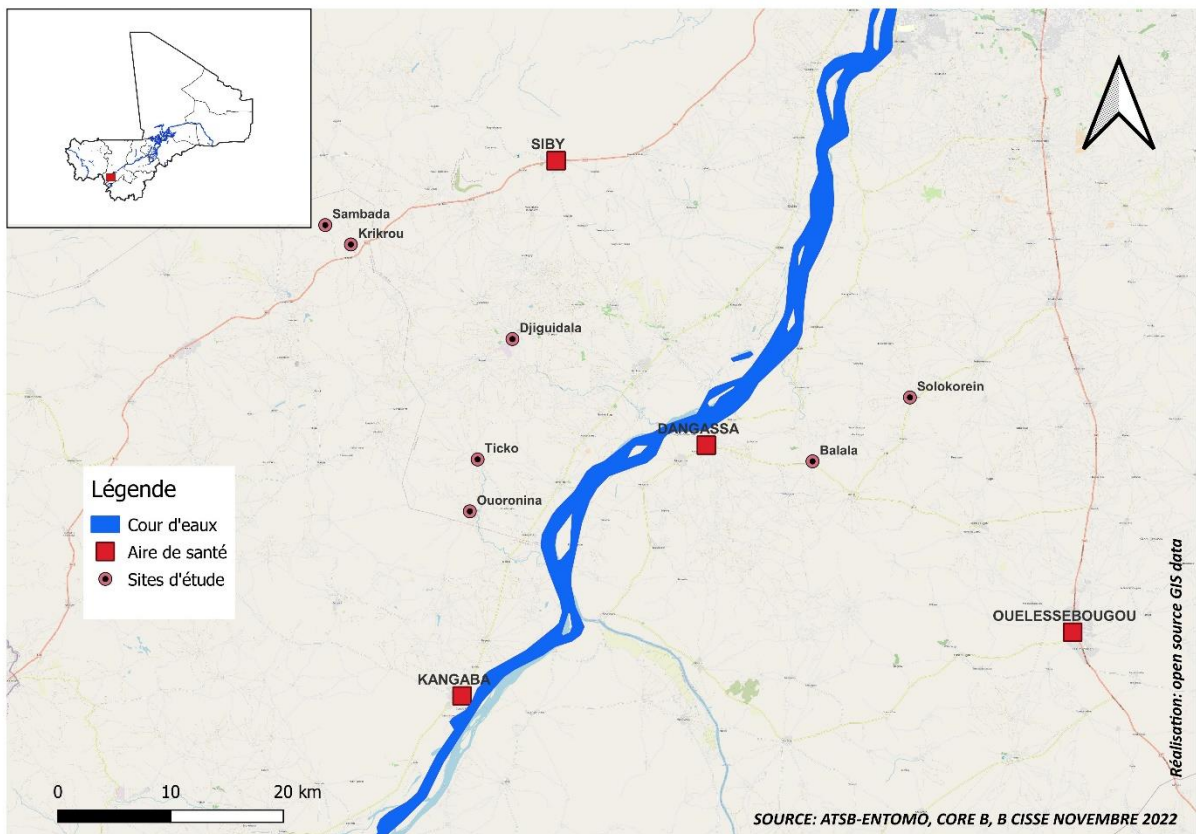


Figure 8. Carte des sites d'étude

4.1.1. Kangaba

Le cercle de Kangaba a constitué une de nos zones d'étude, appelé Kaaba en langue malinké ; situé au cœur du Mandé. C'est une ville historique car elle fut berceau de l'empire du Mali. Au niveau de la ville se trouve la case sacrée appelée *Kama Bulon*, un lieu de préservation des fétiches depuis sa création en 1653 jusqu'à nos jours. Sa toiture est restaurée tous les 7 ans donnant lieu à une grande cérémonie durant laquelle les griots de la famille Diabaté de Kéla (le village voisin) récitent les mythes de la création et la généalogie des Keïta. Des récits

marqués surtout par le règne du grand empereur Soundjata Keïta (1190 -1255) qui a proclamé la première déclaration universelle des droits de l'Homme dénommé la "Charte de Kurukan Fuka" en 1235 marquant les bases de l'empire du Mali.

Kangaba a une population de 21714 habitants (recensement 2009) dont le climat est de type soudanien. La température est très variable durant l'année dont la plus basse (18°C) est observée au mois de janvier, et la plus élevée (38°C) au mois de mai accompagnée de la mousson (vent maritime) et de le harmattan (vent continental) qui se succèdent tout au long de l'année.

Cette ville a deux grandes saisons qui sont : une pluvieuse (mai à octobre) et une sèche divisée en saison sèche fraîche (novembre à janvier) et en saison sèche chaude (février à mai).

Quant à la végétation, elle est de type savane herbeuse avec quelques galeries forestières le long du fleuve Niger. Nous y trouvons également des grands arbres comme le Karité (*Vitellaria paradoxa* ou *Butyrospermum parkii*), le Néré (*Parkia biglobosa*), le Manguier (*Mangifera indica*), l'Oranger (*Citrus sinensis*) et des arbustes recouvrent une strate herbacée. La faune est constituée surtout par de petits mammifères notamment les lièvres, les hérissons et quelques phacochères. Les reptiles sont représentés par les margouillats, les scorpions et quelques espèces venimeuses de serpent.

Le relief est marqué par la présence d'une vaste plaine rizicole de plus de 900 hectares qui s'étale entre les villages et le fleuve Niger.

4.1.2. Dangassa

Dangassa, notre seconde zone d'étude, est situé à 95km au sud-ouest de Bamako sur la route nationale 7 (RN-7), dans la commune rurale de Niagadina, sous-préfecture de Kourouba, préfecture de Kati, région de Koulikoro. Il est limité à l'Est par le village de Balala, au Nord par le fleuve Niger, et au sud par le village de Faraba.

La population de Dangassa est estimée environ à huit mille (8000) habitants en 2018 dont les femmes représentées plus de la moitié et elle est composée essentiellement de malinké. Le village compte également quelques Peuhls, Somono, Dogon, Mossi et Bambara d'où une diversité de culture ; quant au domaine religieux la majorité de la population est musulmane. Nous rencontrons aussi des chrétiens et bien évidemment des animistes.

Le climat est de type pré guinéen avec une saison pluvieuse de juin à novembre et une saison sèche de décembre à mai les dominants sont la mousson (en saison de pluies) et le harmattan (en saison sèche). Dangassa a une végétation faite de savane arborée qui est menacé de disparition par les coupes abusives du bois. Parmi les plantes rencontrées, nous pouvons citer le Karité (*Butyrospermum parkii*), le Tamarinier (*Tamarindus indica*), le Néré (*Parkia biglobosa*), le caicédrat (*Khaya senegalensis*). Son relief est dominé par de petites élévations de faible altitude ne dépassant pas 100 m et des plateaux. Les ressources économiques portent sur les produits de l'agriculture, de l'élevage, du tourisme et surtout du commerce.

4.2. Type d'étude

Notre étude était de type longitudinal à passages transversaux mensuels.

4.3. Période d'étude

L'étude s'est déroulée sur une période de six (6) mois : allant de juillet à décembre 2021.

4.4. Population d'étude

L'étude a porté principalement sur les populations sauvages d'*An. gambiae s.l.* (*An. gambiae*, *An. coluzzii*, *An. arabiensis*).

4.5. Collecte de moustique

De juillet à décembre 2021, une fois par mois, nous avons procédé à la collecte des moustiques en utilisant trois techniques à savoir la capture de nuit sur appât humain, la capture de jour par aspersion de pyréthrianoïde et la capture par piège lumineux CDC-UV.

4.5.1. Capture sur appât humain

Elle s'est effectuée simultanément à l'intérieur et à l'extérieur des habitations humaines. Le choix des postes de capture a été fait de façon aléatoire après recensement général. Les captures ont été menées de 18h à 6h du matin à l'aide d'aspirateurs à bouche. Deux postes ont été installés par village. Deux captureurs opéraient au niveau de chaque poste, l'un à l'intérieur et l'autre à l'extérieur entre 18h et 00h. Ils étaient remplacés par deux autres de 00h à 06h. Chaque captureur muni d'une torche électrique, de gobelet en carton, capturait les moustiques se posant sur leurs jambes nues avant que le moustique ne le pique. Un gobelet était utilisé pour chaque tranche horaire de 1h. A la fin de chaque tranche horaire, le

gobelet était déposé dans la caisse en bois recouverte par une serpillière mouillée. L'identification morphologique et la dissection des femelles anophèles vecteurs du paludisme, étaient effectuées le matin à l'aide d'une loupe binoculaire. Les femelles identifiées comme *An. gambiae s.l.* étaient dénombrées, puis classées selon leur état de réplétion (jeun, gorgée, semi-gravide et gravide) et conservées dans des tubes d'Eppendorf® de 1.5 ml portant leur identification et contenant de l'alcool dilué à 80%. Seules les femelles à jeun étaient disséquées sous une loupe binoculaire, leurs ovaires extraits, dilatés et lus au microscope 10 X. Cela permettait de renseigner sur le nombre de dilatations relictuelles folliculaires (correspondant au nombre de cycles gonotrophiques) sur les différents ovarioles et/ou de déterminer les proportions de femelles pares et nullipares.

4.5.2. Capture de jour par aspersion de pyréthrianoïde ou spray-catch

Elle avait lieu dans 12 chambres sélectionnées de façon aléatoire dans chaque village. Les collectes ont été faite par une équipe composée de quatre à cinq personnes. Les chambres ou cases prospectées étaient pulvérisées par un aérosol à base de pyréthrianoïde. Avant toute pulvérisation, tous les objets et aliments pouvant être contaminés par l'insecticide étaient enlevés de la pièce ou recouverts. Ensuite, toutes les portes et fenêtres étaient fermées, puis les draps blancs étalés sur le sol de la case permettant de recueillir les moustiques qui y tombaient après la pulvérisation. Quant à la pulvérisation, elle était effectuée par un membre de l'équipe de collecte portant un masque et à l'aide d'un aérosol à base de pyréthrianoïde, de l'intérieur vers l'extérieur de la case jusqu'à ce que la case soit remplie d'une fine vapeur. La porte était fermée pendant 5 à 10 minutes pour laisser agir l'insecticide. Par la suite, en partant de la porte, les draps étaient ramassés minutieusement un par un en les tenant par les coins afin d'être amenés à l'extérieur à la lumière du jour. A l'aide d'une pince, les moustiques capturés étaient mis dans une boîte de Pétri différente pour chaque case et portant les informations essentielles. Tous les moustiques collectés étaient identifiés morphologiquement, comptés et répartis en différentes espèces mâles et femelles. Les femelles *An. gambiae s.l.* morphologiquement identifiées étaient réparties en différents états de réplétions (à jeun, gorgées, semi-gravides, gravides) puis conservées dans des tubes d'Eppendorf® 1.5ml portant leur identification et contenant de l'alcool dilué à 80%. Les informations portant sur le nombre de personnes ayant dormi la veille de la capture dans la case, le type de case ainsi que le nombre de moustiques capturés étaient enregistrés à l'aide d'un logiciel sur une tablette.

4.5.3. Capture par piège lumineux CDC

Elle s'est déroulée en utilisant six pièges CDC placés à l'extérieur des habitations humaines en fonction de la disposition des maisons du village pour la collecte des insectes de 18h à 6h du matin. Le choix des maisons à proximité desquelles les pièges étaient placés a été fait de façon aléatoire. Les moustiques collectés étaient triés, identifiés. Les femelles identifiées comme *An. gambiae s.l.* étaient classées selon les différents états de réplétion et conservées avec leur identifiant dans des tubes d'Eppendorf® 1.5ml contenant de l'alcool dilué à 80%. Toutes les informations de collecte (nombre de moustiques, lieu de collectes etc.) étaient enregistrées à l'aide d'un logiciel sur une tablette.

4.6. Détection de l'infection *Plasmodium falciparum*

Nous avons utilisé la technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) à partir du protocole de Beier et collaborateurs (56) pour la mise en évidence de la présence de la protéine du *Plasmodium* (*Circumsporozoite Protein* ou CSP) (voir Annexe).

4.7. Calcul des paramètres entomologiques

Il faut rappeler que malgré nos trois techniques de collectes des moustiques, nous avons utilisé pour cette thèse que les données issues des collectes par la méthode de capture nocturne à l'intérieur et à l'extérieur des habitations.

- **Densité**

Elle a été estimée pour chaque village, par les collectes provenant des captures de nuit sur appât humain simultanée à l'intérieur et à l'extérieur des habitations (1 volontaires à l'intérieur et 1 volontaires à l'extérieur par village et par mois).

m (densité anophélienne) = nombre d'anophèles collecté.

- **Cycle gonotrophique**

Il correspond ici au nombre de dilatation après la dissection des ovaires selon la méthode de Polovodova (Polovodova,1949) avec :

0 = pas de dilatation ;

1 = une dilatation ;

2 = deux dilatations ;

3 = trois dilatations etc...

- **Agressivité (m a)**

Nous avons déterminé le calcul de l'agressivité pour la méthode de capture nocturne par la formule suivante :

$$m a = \frac{\text{nombre d'anophèles femelles collectés (jeun)}}{\text{nombre de captureurs}}$$

- **Taux d'infection ou indice sporozoïtique (s)**

Il correspondait ici, à la proportion d'anophèles positifs à l'ELISA-CSP :

$$s = \left[\frac{(\text{nombre de moustique portant au moins un sporozoïte})}{(\text{nombre total de moustique testé})} \right] \times 100$$

- **Taux d'inoculation entomologiques (h)**

Il représentait le nombre de piqûres infectantes reçu par l'Homme et par unité de temps (nuit, mois, ou année) et a été déterminé en multipliant l'agressivité par le taux d'infection.

$$h = m a . s$$

- **Taux quotidien de survie (p)**

Pour le calcul du taux quotidien de survie (*p*), nous avons utilisé la formule de Macdonald (51) comme suit :

$$p = \frac{l}{\sqrt{\frac{P}{(NP + P)}}}$$

Avec : **P** = nombre de femelles pares ; **NP** = nombre de femelles nullipares ; **NP+ P** = nombre de moustique disséqués et *l* = durée moyenne du cycle gonotrophique.

Nous avons choisi la durée du cycle gonotrophique l comme étant égal à 2 en se référant aux travaux antérieures (57–59) ayant fixé cette durée entre 2 et 3 jours.

- **Longévité (L)**

Pour le calcul de la longévité (L), nous avons utilisé la formule de Macdonald (51) comme suit :

$$L = \frac{1}{-lnp}$$

où p = la probabilité quotidienne de survie

4.8. Saisie et analyse des données

4.8.1. Saisie des données

Nos données ont été saisies sur une tablette Samsung Galaxy Tab A6 contenant les applications conçues avec WinDev mobile et ayant une sortie en format Excel. Ces données ont été transférées après leur collecte sur un serveur.

4.8.2. Analyse des données

L'analyse a été réalisée par Microsoft Excel version 16.64.

4.9. Considérations éthiques

Cette étude a été soumise avant son démarrage au comité d'éthique de la FMOS. Elle a été approuvée selon le numéro d'approbation 2018/141/CE/FMPOS, puis prorogée selon le numéro d'approbation 2021/124/CE/USTTB. L'acceptation communautaire et le consentement éclairés des propriétaires des chambres ont été obtenus.

5. Résultats

5.1. Analyse descriptive

Dans les 7 villages pendant les 6 mois, nous avons effectué 72 séances de captures de nuit (CN), 432 séances de Spray-Catch et 216 séances de CDC.

Nous présentons dans le cadre de cette thèse uniquement les données issues des séances de CN qui nous ont permis de collecter 3289 *An. gambiae s.l.*

5.1.1. Répartition de la population d'étude

5.1.1.1. Répartition de la population d'*Anopheles gambiae s.l.* par village

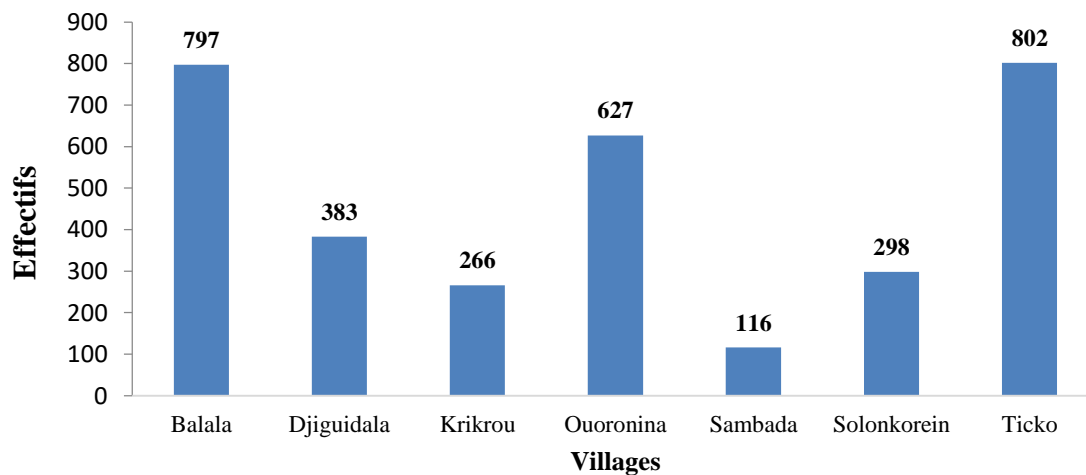


Figure 9. Répartition de la population d'*Anopheles gambiae s.l.* par village

Au total, 3289 anophèles ont été collectés dont les plus grands effectifs 802 et 797 respectivement obtenues à Ticko et Balala et le plus faible effectif de capture à Sambada.

5.1.1.2. Variation mensuelle d'*Anopheles gambiae s.l.* par village

Tableau I. Nombre d'*An. gambiae s.l.* capturé par mois et par village.

Villages	Mois					
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Balala	53	170	251	237	73	13
Djiguidala	85	66	196	30	6	0
Krikrou	18	64	163	15	6	0
Ouoronina	180	198	130	113	4	2
Sambada	24	18	69	5	0	0
Solonkorein	92	103	90	11	0	2
Ticko	44	364	308	85	0	1

Nous constatons que la majorité des moustiques a été collecté au mois de septembre dans la plupart des villages d'étude, excepté Ticko, Ouoronina et Solonkorein où les plus grands nombres ont été collectés en août.

5.1.1.3. Répartition du total de moustiques capturés en fonction du lieu de collecte

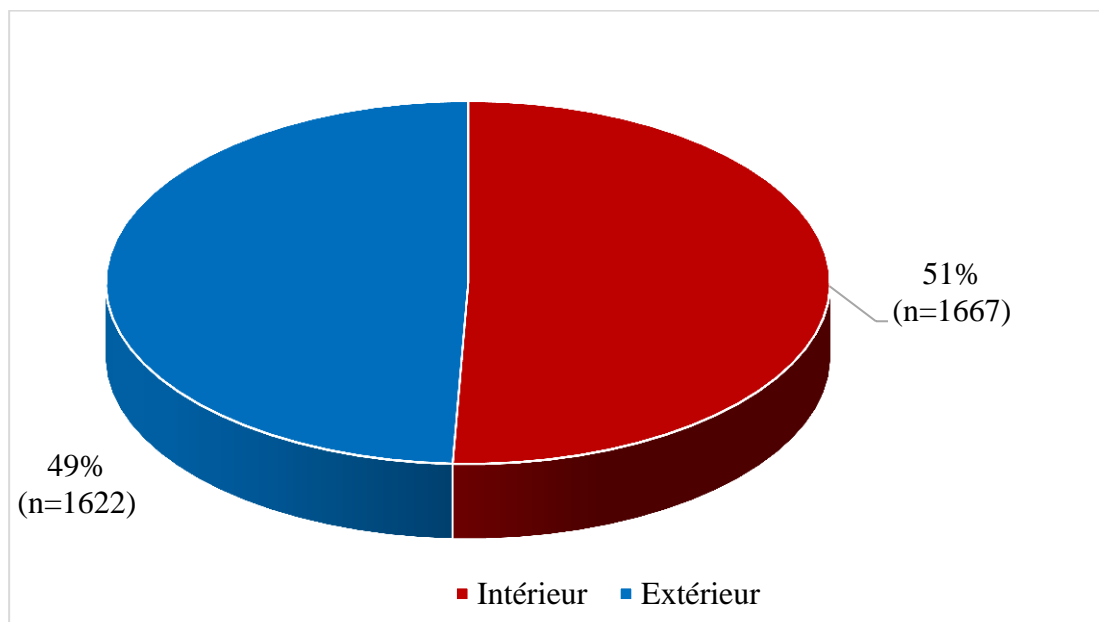


Figure 10. Répartition du total de moustiques collectés en fonction du lieu de collecte.

Ce résultat montre que la majorité des moustiques (1667/3289 soit 51%) a été collecté à l'intérieur des habitations humaines.

5.1.1.4. Répartition du total de moustiques capturés en fonction du lieu de collecte et par village

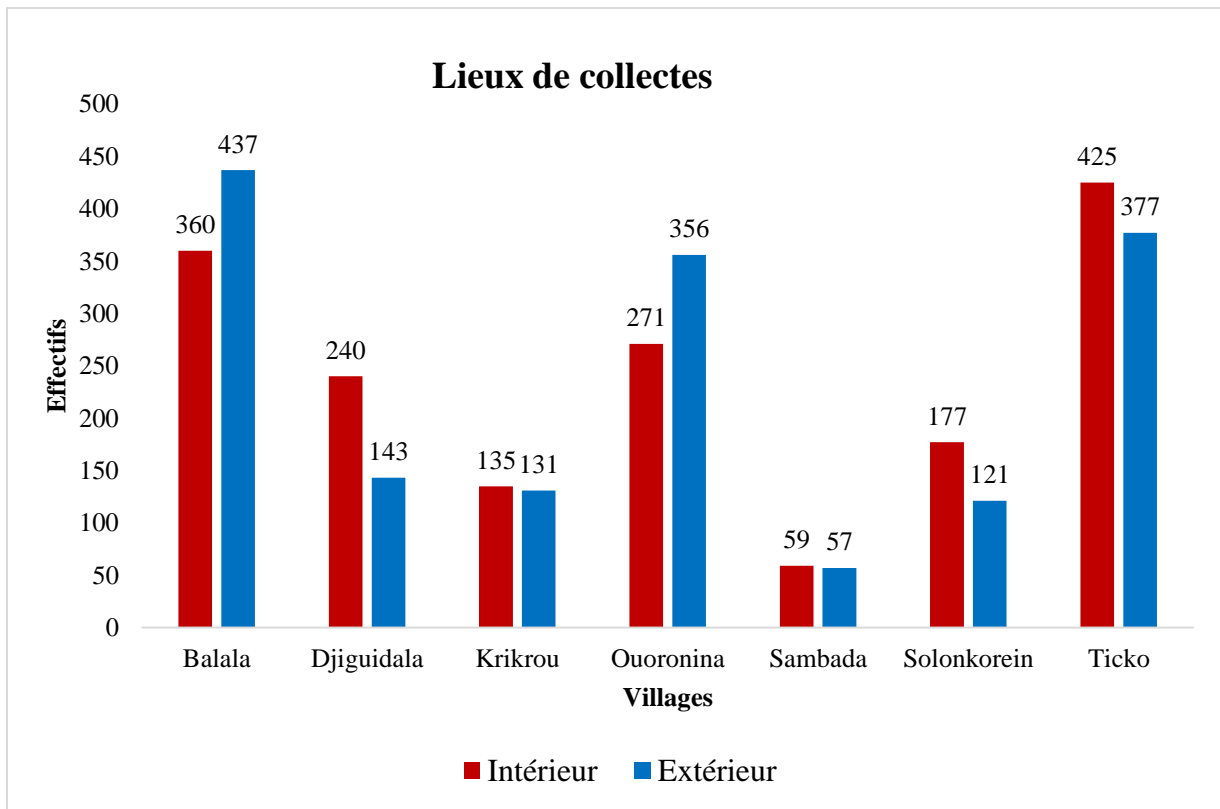


Figure 11. Répartition du total de moustiques collectés en fonction du lieu de collecte et par village

Nous remarquons que la plupart des moustiques ont été collectés à l'intérieur dans tous les villages, excepté à Balala et Ouoronina où il y a eu plus de collecte à l'extérieur qu'à l'intérieur.

5.1.2. Cycles gonotrophiques et parturité

5.1.2.1. Cycles gonotrophiques de la population d'étude

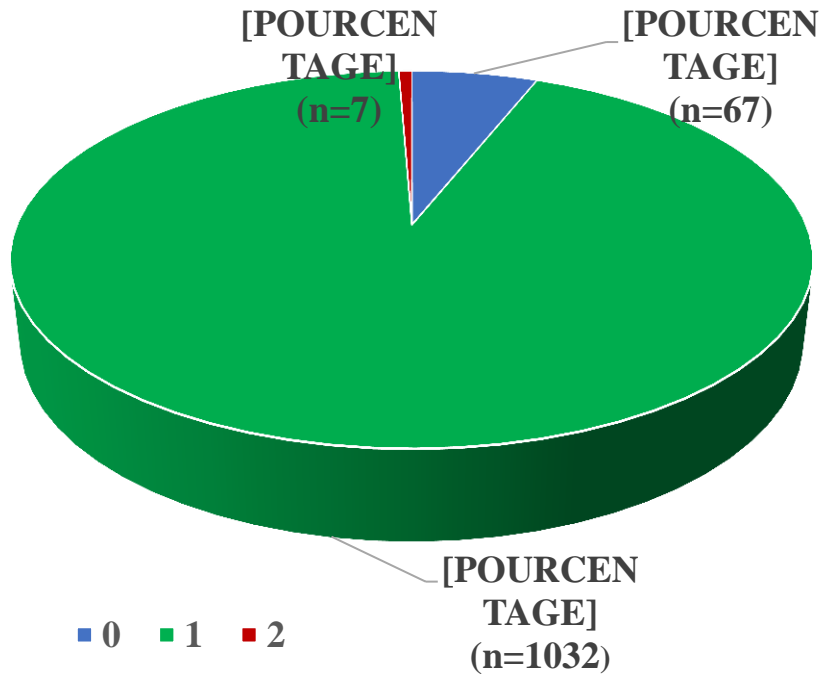


Figure 12. Cycles gonotrophiques de la population d'étude.

Sur un total de 1106 moustiques disséqués, 93 % (1039/1106) avaient pondu au moins une fois contre 6 % (67/1106) qui n'avaient jamais pondu.

5.1.2.2. Cycles gonotrophiques d'*Anopheles gambiae s.l.* par village

Tableau II. Cycles gonotrophiques d'*Anopheles gambiae s.l.* par village.

Villages	Cycles gonotrophiques		
	0	1	2
Balala	29	221	0
Djiguidala	1	117	7
Krikrou	1	89	0
Ouoronina	5	222	0
Sambada	1	48	0
Solonkorein	29	60	0
Ticko	1	275	0

0= pas de dilatation, 1= une dilatation, 2= deux dilatations.

Nous constatons que les moustiques dans tous les villages avaient effectué au moins 1 cycle gonotrophique (avaient pondu au moins une fois dans tous les villages).

5.1.2.3. Cycle gonotrophique en fonction des heures de collectes

Tableau III. *Cycle gonotrophique en fonction des heures de collecte.*

Horaires de capture	Cycles gonotrophiques		
	0	1	2
18h - 19h	0	3	0
19h - 20h	0	21	0
20h - 21h	2	34	0
21h - 22h	8	55	0
22h - 23h	9	60	0
23h - 00h	6	63	0
00h - 01h	5	98	0
01h - 02h	11	156	3
02h - 03h	10	173	2
03h - 04h	8	188	1
04h - 05h	7	118	1
05h - 06h	1	63	0

Le maximum des moustiques ayant pondu une seule fois a été capturé entre 03h et 04h à la différence des moustiques nullipares et ceux ayant 2 cycles gonotrophiques collectés entre 01h et 02h.

5.1.2.4. Répartition de la population d'étude en fonction de la parturité

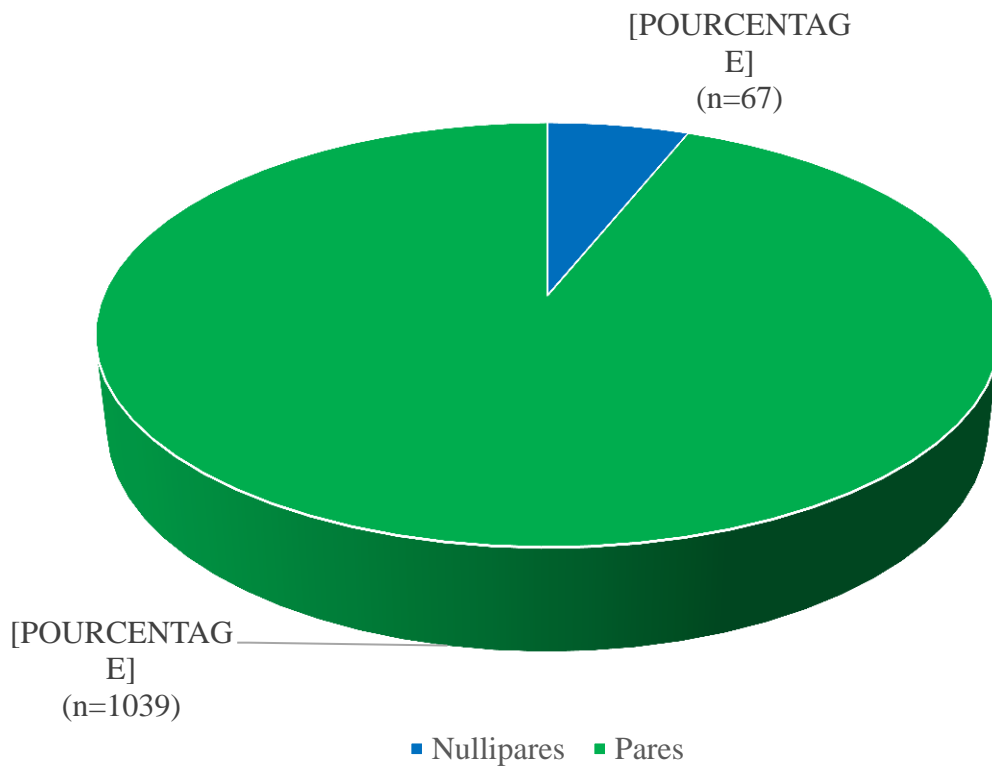


Figure 13. Répartition de la population d'étude en fonction de la parturité.

Cette figure nous montre que la majorité des moustiques disséqués étaient pares.

5.1.2.5. Répartition de la population d'étude en fonction de la parturité et par village

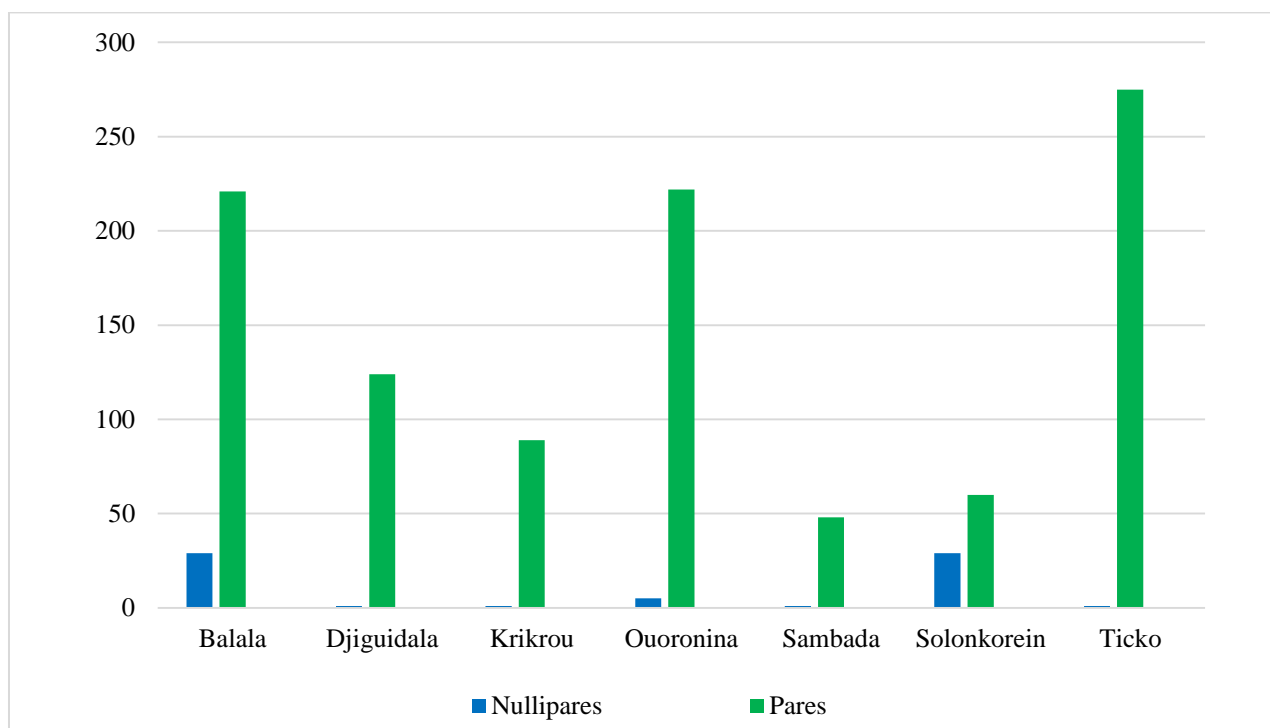


Figure 14. Répartition de la population d'étude en fonction de la parturité et par village.

Nous constatons que les moustiques pares prédominaient sur les moustiques nullipares dans tous les villages.

5.1.3. Agressivité d'*Anopheles gambiae* s.l.

5.1.3.1. Agressivité horaire d'*Anopheles gambiae* s.l.

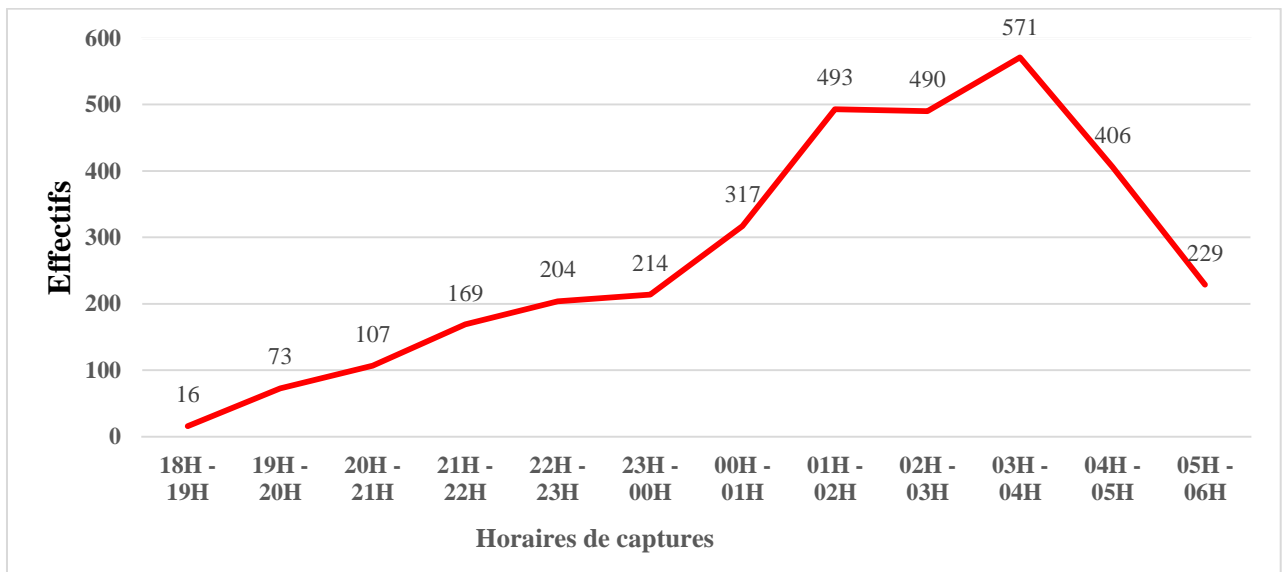


Figure 15. Courbe d'agressivité de la population d'étude.

Le pic d'agressivité des moustiques se situait entre 03h et 04h du matin.

5.1.3.2. Agressivité horaire de la population d'étude par village

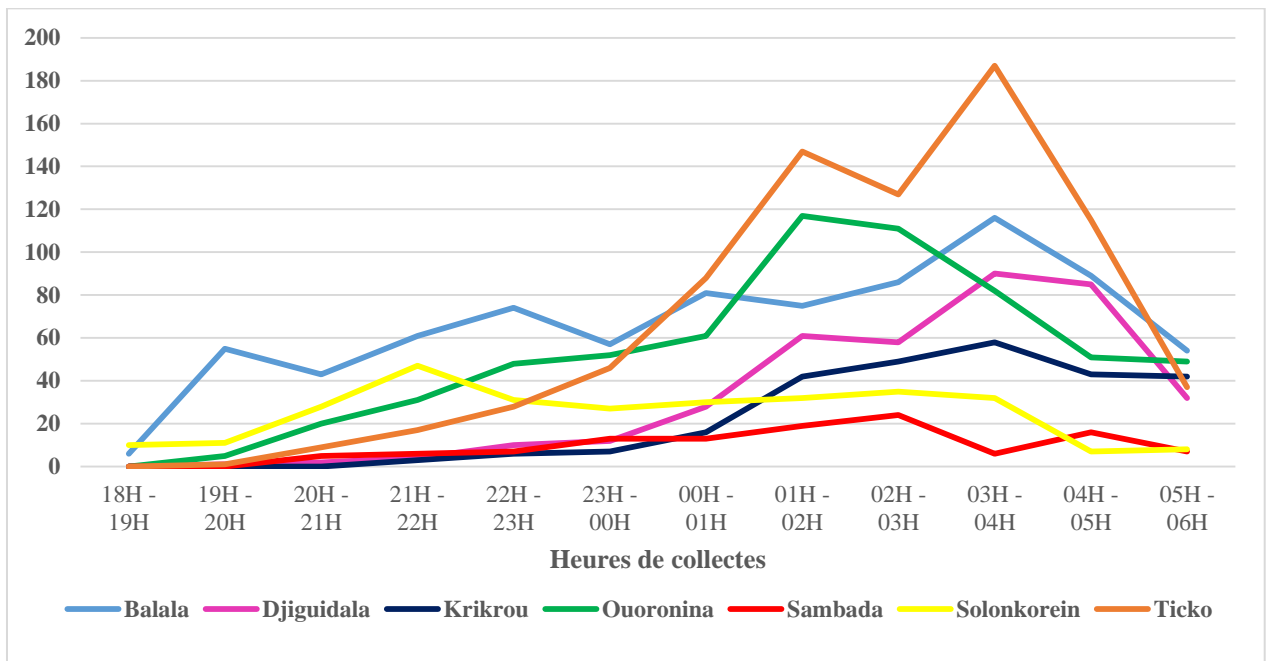


Figure 16. Agressivité horaire de la population d'étude par village.

Excepté Solonkorein (21h – 22h), Ouoronina (01h – 02h) et Sambada (02h – 03h), le pic d'agressivité dans les autres villages se situait dans la tranche horaire 03h – 04h du matin.

5.1.3.3. Agressivité horaire de la population d'étude en fonction du lieu de collecte

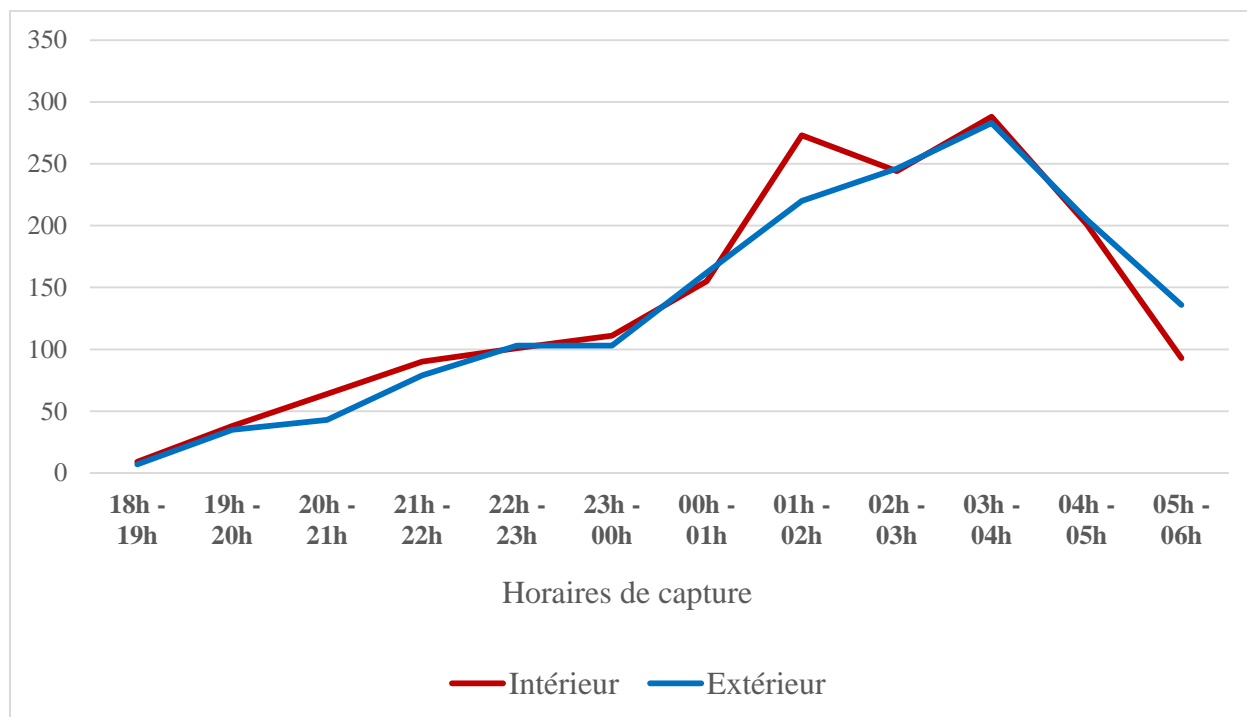


Figure 17. Agressivité horaire d'*Anopheles gambiae s.l.* en fonction du lieu de collecte.

Les 2 courbes d'agressivité horaires sont généralement semblables sauf entre 01h et 03h où l'agressivité est beaucoup plus marquée à l'intérieur.

5.1.3.4. Agressivité horaire de la population d'étude en fonction du lieu de collecte et par village

Tableau IV. Répartition horaire de la population d'étude en fonction du lieu de collecte et par village.

Villages	Horaires de capture																							
	18h - 19h		19h - 20h		20h - 21h		21h - 22h		22h - 23h		23h - 00h		00h - 01h		01h - 02h		02h - 03h		03h - 04h		04h - 05h		05h - 06h	
	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext
Balala	2	4	30	25	23	20	36	25	30	44	27	30	39	42	28	47	39	47	55	61	33	56	16	38
Djiguidala	0	0	0	1	1	1	1	3	2	8	11	1	18	10	41	20	36	22	66	24	46	39	18	14
Krikrou	0	0	0	0	0	0	0	3	0	6	1	6	7	9	18	24	20	29	29	29	29	14	25	17
Ouoronina	0	0	2	3	15	5	19	12	33	15	27	25	18	43	52	65	44	67	22	60	20	31	19	30
Sambada	0	0	0	0	4	1	4	2	5	2	5	8	3	10	9	10	13	11	4	2	9	7	3	4
Solonkorein	5	5	5	6	18	10	18	29	19	12	12	15	20	10	23	9	18	17	25	7	7	0	7	1
Ticko	0	0	1	0	3	6	12	5	12	16	28	18	50	38	96	51	74	53	87	100	57	58	5	32

Nous remarquons qu'à part Ouoronina, Sambada et Solonkorein, les pics d'agressivités dans les autres villages à l'intérieur et à l'extérieur, ont été obtenus entre 03h et 04h. En outre, nous remarquons que les pics d'agressivité dans tous les villages se situaient dans la seconde partie de la nuit (après 00h) excepté à Solonkorein où le pic d'agressivité était précoce (21h et 22h)

5.2. Analyse exploratoire

5.2.1. Agressivité de la population d'*Anopheles gambiae s.l.*

5.2.1.1. Agressivité moyenne de la population d'*Anopheles gambiae s.l.* par personne et par nuit dans chaque village

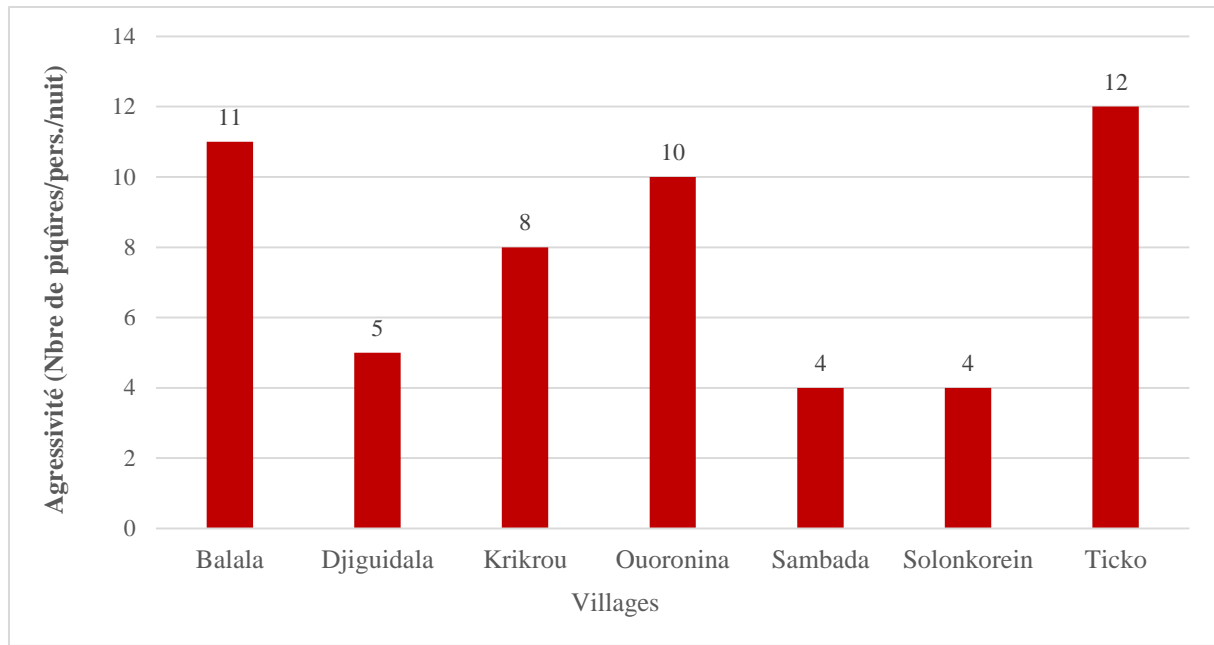


Figure 18. Agressivité moyenne de la population d'*Anopheles gambiae s.l.* par village et par nuit.

Nous constatons que les moustiques étaient plus agressifs à Ticko et à Balala avec respectivement 12 piqûres/personne/nuit et 11 piqûres/personne/nuit par rapport aux autres villages.

5.2.1.2. Agressivité de la population d'*Anopheles gambiae s.l.* par personne par nuit en fonction du mois selon les villages

Tableau V. *Agressivité nocturne d'*Anopheles gambiae s.l.* en fonction du mois et par village.*

Villages	Mois					
	Juillet (p/p/n)	Août (p/p/n)	Septembre (p/p/n)	Octobre (p/p/n)	Novembre (p/p/n)	Décembre (p/p/n)
Balala	3	12	26	17	6	1
Djiguidala	4	6	20	3	0	0
Krikrou	1	2	38	3	1	0
Ouoronina	23	17	11	7	1	0
Sambada	4	1	19	1	0	0
Solonkorein	6	21	6	1	0	0
Ticko	4	35	23	7	0	0

p/p/n = Piqûres/personne/nuit

Excepté Ouoronina où le pic d'agressivité des anophèles collectés était en juillet, le pic d'agressivité dans le reste des villages se situait entre août et septembre.

5.2.2. Taux quotidien de survie et longévité de la population d'étude

5.2.2.1. Taux quotidien de survie et longévité de la population d'*Anopheles gambiae s.l.*

Tableau VI. Taux quotidien de survie et longévité d'*An. gambiae s.l.* par village.

Villages	Nullipares	Pares	Taux quotidien de survie (p)	Longévité (L en jours)
Balala	29	221	0,94	17
Djiguidala	1	124	0,99	100
Krikrou	1	89	0,99	100
Ouoronina	5	222	0,98	50
Sambada	1	48	0,98	50
Solonkorein	29	60	0,82	5
Ticko	1	275	0,99	100

Nous remarquons que globalement, les taux quotidiens de survie dans les différents villages étaient très proches de 1 (100%) et la longévité supérieure ou égale à 50 jours excepté Solonkorein et Balala.

5.2.2.2. Taux quotidien de survie d'*Anopheles gambiae s.l.* par village et par mois

Tableau VII. Taux quotidien de survie (*p*) d'*An. gambiae s.l.* par village et par mois.

Villages	Mois					
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Balala	0,44	0,68	1	1	1	1
Djiguidala	1	1	0,99	1	0	0
Krikrou	1	0,91	1	1	1	0
Ouoronina	0,97	1	1	1	1	0
Sambada	0,93	1	1	1	0	0
Solonkorein	0,95	0,66	1	1	0	0
Ticko	0,96	1	1	1	0	0

Le taux quotidien de survie était de 100% (traduisant la présence uniquement des anophèles femelles pares) dans tous les villages au mois d'octobre. A l'inverse, au mois de décembre, excepté Balala, le taux quotidien de survie était nul (traduisant uniquement la présence de moustiques nullipares).

5.2.3. Infectivité d'*Anopheles gambiae s.l.*

5.2.3.1. Indice sporozoïtique

Tableau VIII. *Indice sporozoïtique (s) d'An. gambiae s.l. par village et par mois.*

Villages	Mois					
	Juillet (%)	Août (%)	Septembre (%)	Octobre (%)	Novembre (%)	Décembre (%)
Balala	0	0,61	0	1	2,70	0
Djiguidala	0	0	0	0	0	0
Krikrou	0	0	0	0	0	0
Ouoronina	0	0	0,76	0	0	0
Sambada	0	0	0	0	0	0
Solonkorein	0	0	0	0	0	0
Ticko	0	0	0	0	0	0

Nous constatons que l'indice sporozoïtique était supérieur ou égal à 1 en octobre et en novembre à Balala avec le maximum en novembre (2,70%).

5.2.3.2. Taux d'inoculation entomologique

Tableau IX. Taux d'inoculation entomologique (*h*) d'*An. gambiae s.l. nocturne* par village et par mois.

Villages	Mois					
	Juillet (pi/p/n)	Août (pi/p/n)	Septembre (pi/p/n)	Octobre (pi/p/n)	Novembre (pi/p/n)	Décembre (pi/p/n)
Balala	0	0,07	0	0,17	0,16	0
Djiguidala	0	0	0	0	0	0
Krikrou	0	0	0	0	0	0
Ouoronina	0	0	0,08	0	0	0
Sambada	0	0	0	0	0	0
Solonkorein	0	0	0	0	0	0
Ticko	0	0	0	0	0	0

pi/p/n = Piqûre infectante/personne/nuit

En multipliant l'indice sporozoïtique (*s*) d'*An. gambiae s.l.* (Tableau VIII) par le nombre de piqûres/personne/nuit (*m a*) d'*An. gambiae s.l.* (Tableau V), on obtient par village, les taux mensuels d'inoculation entomologiques (*h*) dans le tableau ci-dessus.

Le nombre de piqûre infectante par personne et par nuit était élevé entre les mois d'octobre et de novembre avec son maximum (0,17 piqûres infectantes/personne/nuit) en octobre toujours à Balala.

6. Commentaires et discussion

Cette étude des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme en prélude à un essai clinique de phase III des stations d'ATSB s'est déroulée de juin à décembre 2021 couvrant toute la période de transmission du paludisme dans la zone d'étude.

6.1. Répartition de la population d'étude

Concernant la répartition d'*Anopheles gambiae s.l.* dans nos villages, nous avons trouvé une densité d'*Anopheles gambiae s.l.* plus élevée à Ticko et à Balala (soit 802 et 797 sur 3289 moustiques collectés) par rapport aux autres villages. Des études antérieures notamment celle de Touré et collaborateurs (32) a montré que cette région du Mali était constituée principalement par les vecteurs appartenant au complexe d'*An. gambiae*. La différence de la densité anophélienne entre les villages de Ticko et Balala par rapport aux autres villages serait probablement due à la proximité du village (Balala) avec un cours d'eau permanent en plus d'une couverture végétale abondante et de nombreuses gîtes (Ticko) durant la saison de transmission.

Nos résultats ont montré que la majorité des moustiques a été collectée au mois de septembre dans la plupart des villages d'étude. Ces résultats sont similaires à ceux de nombreuses études réalisées au Mali (60), dans la région de Bobo-Dioulasso au Burkina Faso (61–63), où les membres du complexe *An. gambiae s.l.* étaient bien connus pour leurs variations saisonnières très étroitement associées à la pluviométrie dont le pic se situait au mois d'août ou de septembre.

Les anophèles vecteurs de paludisme peuvent piquer aussi bien à l'intérieur (endophagie) qu'à l'extérieur (exophagie) des maisons ou des étables en fonction de leurs préférences trophiques, variables selon les espèces anophéliennes et selon la disponibilité ou accessibilité des hôtes (2). Nous avons collecté plus d'anophèles à l'intérieur des habitations humaines qu'à l'extérieur. Ce comportement de piqure plus endophile qu'exophile chez *Anopheles gambiae s.l.* à l'intérieur des habitations humaines a été rapporté par Quinones et collaborateurs en Gambie (58).

6.2. Cycles gonotrophique et parturité

Le cycle gonotrophique chez les femelles d'*Anopheles gambiae s.l* se déroule et continuera tout au long de leur vie et il est rythmé par la disponibilité des hôtes et des gîtes, ainsi que par les conditions de température et d'humidité qui pourront influencer sa longévité (2). Au cours de notre étude, nous avons trouvé que les moustiques femelles avaient effectués 1 à 2 cycles gonotrophiques. Nous avons également constaté qu'il y'avait plus de femelles pares que de femelles nullipares dans tous les villages. Il a été observé dans les conditions naturelles 5 à 8 cycles gonotrophiques chez les vecteurs d'Afrique (2). Cependant nos résultats sont semblables à ceux des travaux sur les vecteurs majeurs en Afrique sub-saharienne telles que les femelles pares d'*An. gambiae s.l.* chez lesquelles le cycle gonotrophique était de l'ordre de 2 à 3 (2,58,59).

De plus, nous n'avons pas trouvé de répartition de la nuit en fonction du cycle gonotrophique comme rapporté par Bockarie et collaborateurs (64) qui ont observé, chez *An. gambiae s.l.* en Sierra Leone que les femelles pares avaient tendance à piquer plus tardivement que les nullipares. En effet, nous avons remarqué que les moustiques nullipares et pares étaient majoritairement collectés dans la seconde partie de la nuit (après 00h). Ces résultats ne sont non plus pas superposables avec l'activité de vol décrit par Jones et collaborateurs (65) chez *An. gambiae s.l.* où les femelles nullipares avaient une forte activité en début de nuit (probablement la piqûre) et une faible activité en fin de nuit.

6.3. Agressivité d'*Anopheles gambiae s.l.*

Les anophèles piquent essentiellement la nuit et plus précisément entre le coucher et le lever du soleil, soit généralement entre 18 h et 6 h (66). Chez *An. gambiae s.l.*, les femelles piquent majoritairement au cours de la 2ème partie de la nuit (2,63). Nos résultats corroborent ces observations avec notre pic d'agressivité se situant entre 03h et 04h du matin, excepté à Solonkorein où le pic d'agressivité était précoce (21h et 22h). Cette particularité de piqûre précoce à Solonkorein, pourrait être due à un changement de comportement des moustiques par le décalage de leur horaire de piqûre vers le début de la soirée en raison de la protection des populations par les moustiquaires imprégnées utilisées généralement en début de la seconde partie de la nuit (14,15). En outre, cette piqûre précoce peut favoriser une transmission résiduelle du paludisme. Il est donc nécessaire de développer de nouveaux outils afin de circonscrire cette transmission.

Le rythme de piqûre durant la nuit était semblable entre l'intérieur et l'extérieur sauf entre 01h et 03h où l'agressivité était beaucoup plus marquée à l'intérieur. Cela traduit que la transmission peut se faire aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur et par ricochet limiter l'impact des méthodes classiques de lutte antivectorielle.

La quantification de l'agressivité nous a permis de constater que les moustiques étaient plus agressifs à Ticko et à Balala avec au moins 12 piqûres/personne/nuit et 11 piqûres/personne/nuit comparativement aux autres villages. Excepté Ouoronina où le pic d'agressivité des anophèles collectés était en juillet, l'agressivité dans le reste des villages se situait entre août et septembre. Ces résultats confirment les études antérieures soutenant que les pics d'agressivité étaient observées durant la saison des pluies se situant en fin juin et octobre (67).

6.4. Taux quotidien de survie et Longévité de la population d'étude

La longévité du vecteur est très importante pour les parasites car elle leur permet d'atteindre leur stade infectant. Réduire cette longévité peut donc réduire la transmission.

Nous avons trouvé que le taux quotidien de survie global durant la période de transmission était proche de 100% dans tous les villages. En examinant mensuellement ce taux quotidien de survie, nous avons trouvé qu'il était pratiquement égal à 1 (100%) uniquement aux mois de septembre et d'octobre (traduisant la présence de presque uniquement de moustiques pares). À l'inverse, en décembre, excepté Balala le taux quotidien de survie était nul (traduisant uniquement la présence de moustiques nullipares). Se rapportant à la longévité et à la transmission, nos résultats supposent que ce sont aux mois de septembre et d'octobre que nous avons les densités élevées d'anophèles vivant plus longtemps, et potentiellement de transmission élevée contrairement au mois de décembre. Réduire le paludisme dans nos zones d'étude consisterait à réduire la longévité durant ces mois (septembre et octobre). Il a été démontré qu'une réduction de 22 % du taux quotidien de survie de 0,9 à 0,7 entraînait une réduction de 96 % des possibilités de survie anophélienne donc de transmission plasmodiale (2).

6.5. Infectivité d'*Anopheles gambiae* s.l.

Nous constatons que l'indice sporozoïtique était supérieur à 1% en octobre et en novembre à Balala avec le maximum en novembre (2,70%). Le nombre de piqûres infectantes par personne et par nuit était élevé entre les mois d'octobre et de novembre avec son maximum à 0,17 piqûres infectantes/personne/nuit en octobre toujours à Balala. Nos résultats sont semblables à ceux des pays de faciès de savane où les piqûres infectantes par personne et par nuit varient généralement entre 0,27 et 1,09 comme rencontré au sud du Burkina Faso (68) et au nord du Nigeria (69).

6.6. Limites de l'étude

Notre étude avait quelques limites telles que :

- la non-évaluation des paramètres de la transmission du paludisme durant la saison sèche (janvier -mai) ;
- la non-détermination de la composition du complexe *d'An gambiae*, du statut de résistance des vecteurs ainsi que l'origine du repas sanguin ;
- la non-évaluation du taux de couverture en MILDA et les méthodes de protection des populations.

7. Conclusion

Notre étude nous a permis de savoir qu'*An. gambiae s.l.* piquant essentiellement au cours de la seconde partie de la nuit (03h et 04h) à l'intérieur et à l'extérieur des habitations humaines et ayant fait 1 ou 2 cycles gonotrophiques était le vecteur principal sur nos sites. Son taux quotidien de survie était élevé au mois d'octobre et faible au mois de décembre avec une longévité ≥ 50 jours et un TIE maximum de 0,17 piqûres infectantes/personne/nuit observé à Balala. Nos résultats démontrent ainsi une limite des méthodes actuelles de lutte antivectorielle à cause du risque persistant de transmission du paludisme et donc la nécessité de développer des outils complémentaires de lutte antivectorielle afin de renforcer ceux déjà existants.

8. Recommandations

Au terme de notre étude et vue nos résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux autorités sanitaires

- Renforcer la sensibilisation sur l'utilisation des outils actuels de lutte antivectorielle contre le paludisme (le traitement préventif intermittent : TPI, la chimio-prévention saisonnière : CPS, les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action : MILDA et la pulvérisation intra domiciliaire : PID) ;
- Encourager le développement et la promotion de nouveaux outils de lutte antivectorielle ;
- Accompagner des études portant sur la valeur ajoutée des ATSB sur les autres outils de lutte antivectorielle du paludisme au Mali.

Aux chercheurs du MRTC

- Mener des études similaires durant la saison sèche et aussi sur d'autres vecteurs de maladies à transmission vectorielle.

9. Références bibliographies

1. Singh B, Sung LK, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SSG, Cox-Singh J, et al. A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings. *Lancet* Shing al 2004. 2004 Mar 27;363(9414):1017–24.
2. Carnevale P, Robert V. Les anophèles : biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. 2009.
3. OMS. World Malaria Report 2021. 2021;13(December):322.
4. Delmont J. Paludisme et variations climatiques saisonnières en savane soudanienne d’Afrique de l’Ouest. *Cah d’études africaines*. 1982;22(85):117–33.
5. Shepard DS, Ettling MB, Brinkmann U, Sauerborn R. The economic cost of malaria in Africa. *Trop Med Parasitol*. 1991 Sep;42(3):199-203.
6. Chima RI, Goodman CA, Mills A. The economic impact of malaria in Africa: A critical review of the evidence. *Health Policy*. 2003 Jan;63(1):17-36.
7. Diallo M, Sangaré D, Traoré A, Mariko M, Diarra S, Diallo M, et al. Gîtes larvaires et infectivité des gamétocytes de Plasmodium falciparum, MALI MEDICAL 2015 TOME XXX N°1 28. 2015.
8. PNLP. Plan stratégique national de lutte contre le paludisme 2007-2011. 2006.
9. PNLP. Plan stratégique de lutte contre le paludisme 2013-2017. 2013.
10. Venanzi E, López-Vélez R. Resistance to the antimalarial drugs. *Rev Esp Quimioter*. 2016 Sep;29 Suppl 1:72-5.
11. Menard D, Dondorp A. Antimalarial drug resistance: a threat to malaria elimination. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Jul 5;7(7):a025619.
12. Keïta M, Sogoba N, Kané F, Traoré B, Zeukeng F, Coulibaly B, et al. Multiple Resistance Mechanisms to Pyrethroids Insecticides in Anopheles gambiae sensu lato Population From Mali, West Africa. *J Infect Dis* 2021 Apr 27;223(12 Suppl 2):S81-S90.
13. Rubert A, Guillon-Grammatico L, Chandenier J, Dimier-Poisson I, Desoubieux G. Insecticide resistance in anopheles mosquitoes: Additional obstacles in the battle against malaria. *Med Sante Trop*. 2016 Nov 1;26(4):423-431.
14. Russell TL, Govella NJ, Azizi S, Drakeley CJ, Kachur SP, Killeen GF. Increased proportions of outdoor feeding among residual malaria vector populations following increased use of insecticide-treated nets in rural Tanzania. *Malar J*. 2011 Apr 9;10:80.
15. Sherrard-Smith E, Skaip JE, Beale AD, Fornadel C, Norris LC, Moore SJ, et al. Mosquito feeding behavior and how it influences residual malaria transmission across Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Jul 23;116(30):15086-15095.
16. OMS. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030. 2016.

17. Diarra RA, Traore MM, Junnila A, Traore SF, Doumbia S, Revay EE, et al. Testing configurations of attractive toxic sugar bait (ATSB) stations in Mali, West Africa, for improving the control of malaria parasite transmission by vector mosquitoes and minimizing their effect on non-target insects. *Malar J.* 2021 Apr 14;20(1):184.
18. Junnila A, Revay EE, Müller GC, Kravchenko V, Qualls WA, Xue R de, et al. Efficacy of attractive toxic sugar baits (ATSB) against *Aedes albopictus* with garlic oil encapsulated in beta-cyclodextrin as the active ingredient. *Acta Trop.* 2015 Dec;152:195-200.
19. Saghafipour A, Vatandoost H, Zahraei-Ramazani AR, Yaghoobi-Ershadi MR, Rassi Y, Jooshin MK, et al. Control of zoonotic cutaneous leishmaniasis vector, *Phlebotomus papatasi*, using attractive toxic sugar baits (ATSB). *PLoS ONE PHLEBOTOME.* 2017 Apr 1;12(4).
20. Combemorel P. Le cycle de vie de *Plasmodium falciparum*. *Planet-Vie.* 2019 Jun 23.
21. OMS. Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle. Guide du participant: guide du participant. 2013.
22. OMS. World malaria report 2020. Genève; 2020.
23. Foster WA. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Annu Rev Entomol.* 1995;40:443-74.
24. OMS. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs: Guide du Stagiaire Mobilisation sociale et Formation Département du Contrôle, de la Prévention et de l'Eradication Groupe des Maladies Transmissibles Edition provisoire. 2003.
25. Ménard R, Sultan AA, Cortes C, Altszuler R, Van Dijk MR, Janse CJ, et al. Circumsporozoite protein is required for development of malaria sporozoites in mosquitoes. *Nature.* 1997 Jan 23;385(6614):336-40.
26. OMS. Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle. 2014;200.
27. Garcia JE, Puentes A, Patarroyo ME. Developmental Biology of Sporozoite-Host Interactions in *Plasmodium falciparum* Malaria: Implications for Vaccine Design. *Clin Microbiol Rev.* 2006 Oct;19(4):686-707.
28. Bannister L, Mitchell G. The ins, outs and roundabouts of malaria. *Trends Parasitol.* 2003 May;19(5):209-13.
29. Brunhes J, Hassaïne K, Rhaïem A, Hervy J. Les Culicides de l' Afrique méditerranéenne : espèces présentes et. 2019;105(2):195–204.
30. Robert V, Carnevale P. Les vecteurs des paludismes en Afrique subsaharienne. *Études Médicales.* 1984; (2):79–90 p.
31. Williams J, Pinto J. Manuel de formation à l' entomologie du paludisme A l' intention des techniciens en entomologie et lutte antivectorielle (Niveau de Base). *Pan Am Heal Organ.* 2012;(2):1–79.
32. Touré Y, V P, SF T, A C, HM M, O S, et al. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex

- in Mali, West Africa. *Parassitologia*. 1998 Dec;40(4):477-511.
33. Coetzee M, Hunt R, R W, Della Torre A, Coulibaly M, Besansky N. *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa*. 2013;3619:246-74.
 34. Barrón MG, Paupy C, Rahola N, Akone-Ella O, Ngangue MF, Wilson-Bahun TA, et al. A new species in the major malaria vector complex sheds light on reticulated species evolution. *Sci Rep*. 2019 Oct 14;9(1):14753.
 35. Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene P, Kengne P, Antonio-Nkondjio C, Wondji C, et al. Malaria vectors: From the field to genetics. *Research in Africa. Rev Epidemiol Sante Publique*. 2005 Jun;53(3):283-90.
 36. Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene PH, Antonio-Nkondjio C, Wondji C, Kengne P, et al. Systeme et biologie des anophèles de Plasmodiu,. 2003.
 37. Konate L, Diagne N, Brahim K, Faye O, Legros F, Rogier C, et al. Biologie des vecteurs et transmission de plasmodium falciparum, p. malariae et p. ovale dans un village de savane d’afrique de l’ouest (Dielmo, Sénégal). *Parasite*. 1994 Dec;1(4):325-33.
 38. OMS. Rapport 2020 sur le paludisme dans le monde : Messages généraux. 2020.
 39. Desfontaine M, Gelas H, Goghomu H, Kouka-Bemba D, Carnevale P. Evaluation des pratiques et des coûts de lutte antivectorielle à l’échelon familial en Afrique centrale I. *Bull Soc Path Ex*. 1989;82:555–65.
 40. Darriet F. Des moustiques et des hommes Chronique d’une pullulation annoncée. Marseille. Éditions I, editor. 2017. 136 p.
 41. Kamaszewski M, Skrobisz M, Wójcik M, Kawalski K, Szczepá Nski A, Bujarski P, et al. The Role of Transcription Factors in Gonad Development and Sex Differentiation of a Teleost Model Fish-Guppy (*Poecilia reticulata*). *Animals (Basel)*. 2020 Dec 15;10(12):2401.
 42. Boumis RJ, Ferry LA, Pace CM, Gibb AC. *Gambusia affinis*) Know Where They Are on a Slope and How to Return to the Water? *PLoS One*. 2014 Aug 27;9(8):e104569.
 43. Tetreau G, Grizard S, Patil CD, Tran F-H, Tran Van V, Stalinski R, et al. Bacterial microbiota of *Aedes aegypti* mosquito larvae is altered by intoxication with *Bacillus thuringiensis israelensis*. *Parasit Vectors*. 2018 Mar 2;11(1):121.
 44. Yu S, Wang P, Qin J, Zheng H, Wang J, Liu T, et al. *Bacillus sphaericus* exposure reduced vector competence of *Anopheles dirus* to *Plasmodium yoelii* by upregulating the Imd signaling pathway. *Parasit Vectors*. 2020 Sep 5;13(1):446.
 45. ANOFEL. Paludisme: Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) 2014. 2014.
 46. OMS. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030. *Organ Mond la Santé*. 2016;1–33.
 47. Fiorenzano J, Koehler P, Xue R. Attractive Toxic Sugar Bait (ATSB) For Control of

- Mosquitoes and Its Impact on Non-Target Organisms: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2017 Apr 10;14(4):398.
48. Ndiath MO. Comparaison de trois méthodes de captures pour échantillonnage des populations anophéliennes et la détermination du taux d'infection plasmodiale à Dielmo et à Bandafassi, Sénégal. 2003. Dakar (SEN) ; Dakar : UCAD ; IRD, 58 p.
 49. Le goff G, Carnevale P, Robert V. Comparaison des captures sur homme et au piège lumineux CDC pour l'échantillonnage des moustiques et l'évaluation de la transmission du paludisme au Sud-Cameroun. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*1993, 73, 55-60.
 50. Carnevale P. Comparaison de trois méthodes de capture pour l'échantillonnage d'une population d'*Anopheles nili* (Theobald), 1904. *Cah ORSTOM, sér. Elut méd Parasitol.* 1974;XII(2):135-44.
 51. Macdonald G. *The Epidemiology and Control of Malaria.* Toronto, Oxford University Press. MACKINNON M.J., HASTINGS I.M., 1998 – The evolution of. 1957.
 52. Mullis K, Faloona F, Scharf, Saiki R, Corne G, Erlich H. Amplification enzymatique spécifique de l'ADN in vitro : la réaction en chaîne par polymérase. 1986.
 53. Abderrazak SBEN. Base de la technique PCR et Methodes Apparentees Appliquees En Parasitologie Veterinaire. 2004;1:51-7.
 54. Genc A, Eroglu F, Koltas IS. Detection of *Plasmodium vivax* by Nested PCR and Real-Time PCR. *Korean J Parasitol.* 2010 Jun;48(2):99-103.
 55. Grace MB, Buzard GS, Hughes MR, Gore-Langton RE. Degradable dUMP Outer Primers in Merged Tandem (M/T)-Nested PCR: Low- and Single-Copy DNA Target Amplification. *Anal Biochem.* 1998 Oct 1;263(1):85-92.
 56. Beier JC, Perkins P V., Wirtz RA, Koros J, Diggs D, Gargan TP, et al. Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. *J Med Entomol.* 1988 Jan;25(1):9-16.
 57. Gillies M.T. La durée du cycle gonotrophique chez *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus*, avec une note sur l'efficacité de la capture à la main. *Bull. liais. doc. - OCEAC : (26) N^o2* Juin 1993.
 58. Quiñones ML, Lines JD, Thomson MC, Jawara M, Morris J, Greenwood BM. *Anopheles gambiae* gonotrophic cycle duration, biting and exiting behaviour unaffected by permethrin-impregnated bednets in The Gambia. *Med Vet Entomol.* 1997 Jan;11(1):71-8.
 59. Carnevale P, Bosseno M-F, Molonier M, Lancien J, Pont FL, Zoulani A. Étude du cycle gonotrophique d' *Anopheles gambiae* (Diptera , Culicidae) (Giles , 1902) en zone de forêt dégradée d' Afrique Centrale (' 1. 1979;XVII(2).
 60. Dolo G, Briët OJT, Dao A, Traoré SF, Bouaré M, Sogoba N, et al. Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Trop.* 2004 Jan 1;89(2):147-59.
 61. Mattingly PF. Studies on West African forest mosquitoes; the seasonal distribution,

- biting cycle and vertical distribution of four of the principal species. *Bull Entomol Res.* 1949 May;40(1):149-68.
62. Holstein MH. *Biologie d'Anopheles gambiae : recherches en Afrique-occidentale française (Org. mond. Santé, Sér. monographies, 9).* 1952.
 63. Hamon J. *Les moustiques anthropophiles de la région de Bobo-Dioulasso (République de Haute-Volta) : cycles d'agressivité et variations saisonnières.* *Annals de la Société Entomologique*, 1963.
 64. Bockarie MJ, Alexander N, Bockarie F, Ibam E, Barnish G, Alpers M. The late biting habit of parous *Anopheles* mosquitoes and pre-bedtime exposure of humans to infective female mosquitoes. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1996 Jan-Feb;90(1):23-5.
 65. Jones MDR. Possible use of chemicals to change the programming of behaviour in adult mosquitoes. In: *Insect Neurobiology and pesticide action (Neurotax 1979)* London Society of Chemical Industry. 1980. p. 253-260.
 66. Hamon J. L'importance des changements de comportement chez les insectes. *Bull World Health Organ.* 1963;29 Suppl(Suppl):115-20.
 67. Keita M, Doumbia S, Sissoko I, Touré M, Diawara SI, Konaté D, et al. Indoor and outdoor malaria transmission in two ecological settings in rural Mali: implications for vector control. *Malar J.* 2021 Mar;20(1):127.
 68. Robert V, Gazin P, Ouédkaogo V, Carnevale P. *Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) : Étude entomologique de la transmission.* 1986;
 69. Molineaux L, Gramiccia G. Le projet Garki : Recherche épidémiologie du paludisme et la lutte antipaludique dans la savane soudanienne de l'Afrique occidentale. *Angew Chemie Int Ed* 6(11), 951–952. 1980;5–24.
 70. Scott JA, Brogdon WG, Collins FH. Identification of Single Specimens of the *Anopheles Gambiae* Complex by the Polymerase Chain Reaction. *Am J Trop Med Hyg.* 1993 Oct;49(4):520-9.
 71. Fanello C, Santolamazza F, Della Torre A. Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med Vet Entomol.* 2002 Dec;16(4):461-4.

10. Annexes

Annexe 1. Les méthodes enzymatiques (ELISA) selon le protocole Beier et collaborateurs (56) .

➤ **Protocole de détection de la présence de la protéine du Plasmodium (Circumsporozoite Protein ou CSP)**

Préparation des solutions pour l'ELISA-CSP :

Solution BBNP40 : Faire le mélange de 5 ml de BB avec 25 µl de NP40 et agiter pendant 15 mn.

Solution de lavage (PBS-Tween) : dissoudre 9.65 g de PBS (Phosphatase Buffer Saline) dans 1000 ml d'eau distillée et ajouter 500 µl de Tween 20.

Solution d'anticorps monoclonal non marqué : prendre pour une plaque 5 ml de PBS et ajouter 20 µl d'anticorps non marqué.

Solution d'anticorps monoclonal marqué : prendre pour une plaque 5 ml de BB et ajouter 10 µl d'anticorps.

Solution de révélation : pour une plaque mélanger 5 ml de l'ABTS peroxydase substrat et 5 ml de peroxydase solution B et agiter pour ainsi obtenir 10 ml par plaque.

Solution de BB (Blocking Buffer) pour un volume de 1L :

- Il faut : 5 g de caséine (0,5%), 100 ml de NaOH (0,1N), 900 ml de PBS (pH=7), 0,10 de Thimerosol, 0,02 g de phénol rouge ;
- Prendre 100 ml de NaOH à 0,1 N plus 5 g de caséine et faire bouillir l'ensemble tout en agitant le mélange ;
- Une fois en ébullition arrêter le chauffage et ajouter petit à petit 900ml de PBS tout en agitant le mélange ;
- Ajouter ensuite le Thimerosol et le phénol rouge et laisser refroidir ;
- Le pH est ensuite réglé à 7,4 par l'addition de l'acide chlorhydrique (HCl).

Solutions des contrôles positifs : dissoudre 25µg de réactif dans 25µl d'eau distillée, ensuite mélanger 5µl de la solution de contrôle + 500µl de BB dans le tube I. il faut prendre 10µl du tube I, ajouter 1000µl de BB dans le tube II et enfin prendre 10µl du tube II + 500µl de BB mettre dans le tube III.

Mode opératoire :

- Mettre individuellement les tête-thorax dans les tubes Eppendorf ®1,5 ml ;

- Ajouter 50 µl de BBNP40 (Nonidetp-40) dans chaque tube ;
- Écraser mécaniquement à l'aide de petits pilons Kontes ® et ajouter 200 µl de BB (Blocking buffer) ;
- Porter le numéro sur chaque tube ;
- Déposer 50 µl de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puits de la plaque de micro-titration et laisser incuber pendant 30 minutes à la température ambiante ;
- Aspirer l'anticorps non marqué, mettre 200 µl de BB et laisser incuber une heure de temps ;
- Établir les fiches correspondant aux plaques de micro-titration et réserver des puits pour les témoins ;
- Aspirer le BB, puis mettre 50 µl de broyat de moustique dans les puits correspondants ;
- Mettre en même temps les contrôles positif (Vial III) et négatif dans les puits correspondants et laisser incuber pendant deux heures ;
- Aspirer les broyats de moustiques et laver les plaques deux fois avec du PBS-Tween ;
- Déposer 50 µl d'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puits et laisser incuber pendant une heure ;
- Aspirer l'anticorps monoclonal marqué et laver trois fois les plaques avec du PBS Tween ;
- Ajouter 100 µl de substrat révélateur (substrat ABTS) par puits ;
- Faire la lecture visuellement après 30 minutes.

Remarque : La validation du test est conditionnée à l'apparition de la couleur verte des contrôles positifs. Les puits colorés en vert correspondent aux moustiques positifs c'est-à-dire où la CS protéine a été trouvée.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : Kanouté

Prénom : Bintou

Date et lieu de naissance : 13 juin 1997 à Bamako

Tel/ Email : + 223 92972282/ kanoute.bintou13@gmail.com

Titre : Étude entomologique des paramètres de la transmission du paludisme en prélude à un essai clinique de phase III des stations Attractive Toxic Sugar Bait (ATSB) dans la région de Koulikoro, Mali.

Année de soutenance : 2022

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMOS-FAPH

Secteur d'intérêt : Santé publique, Paludisme, Lutte antivectorielle

Résumé : Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique pour les pays d'Afrique sub-sahariennes dont le Mali, malgré l'utilisation de nombreux outils de prévention et de lutte afin de l'éliminer. C'est dans ce cadre que les stations *Attractive Toxic Sugar Bait* ou ATSB basés sur le principe « attirer-tuer », des moustiques par le piégeage avec un repas sucré attractif contenant un poison oral ont vu le jour. Nous avons donc mené cette étude avec pour objectif d'évaluer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme avant l'implantation des stations ATSB. Elle s'est déroulée dans cinq villages du cercle de Kangaba (Djiguidala, Krikrou, Sambada, Ticko et Ouoronina) et deux villages du cercle de Ouélésébougou (Solonkorein et Balala), tous dans la région de Koulikoro, Mali. Elle était de type longitudinal à passages transversaux mensuels de juillet à décembre 2021. Nous avons utilisé trois méthodes de collectes : la capture de nuit sur appât humain (CN), la capture de jour par aspersion de pyréthrianoïde et la capture par piège lumineux CDC-UV. Nous présentons dans le cadre de cette thèse uniquement les données issues des séances de CN qui nous ont permis de collecter 3289 *An. gambiae s.l.* Ces moustiques piquaient essentiellement au cours de la seconde partie de la nuit entre 03h et 04h du matin aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitats. Ils avaient effectué 1 ou 2 cycles gonotrophiques. Leur taux de survie quotidien était élevé au mois d'octobre et faible au mois de décembre et la longévité supérieure ou égale à 50 jours excepté à Solonkorein et à Balala. Le maximum d'infection, 0,17 piqûres infectantes/personne/nuit a été observé à Balala. Nos résultats démontrent une limite des méthodes actuelles de lutte antivectorielle à cause du risque persistant de transmission du paludisme. D'où la nécessité de développer des outils complémentaires de lutte antivectorielle afin de renforcer l'action de ceux déjà existants.

Mots clés : ATSB, *Anopheles gambiae s.l.*, Paludisme, Lutte antivectorielle, Santé publique.

SPECIFICATION SHEET

Family Name: Kanouté

First Name: Bintou

Date and place of birth: June 13, 1997 in Bamako

Tel/ Email: + 223 92972282/ kanoute.bintou13@gmail.com

Title: Entomological study of malaria transmission parameters as a prelude to a phase III clinical trial of Attractive Toxic Sugar Bait (ATSB) stations in the Koulikoro region, Mali.

Year of defense: 2022

City of defense: Bamako

Country of origin: Mali

Place of deposit: Library of the FMOS-FAPH

Sector of interest: Public health, Vector control

Summary: Malaria remains a major public health problem for sub-Saharan African countries, including Mali, despite the use of numerous prevention and control tools to eliminate it. These tools are increasingly limited by the phenomena of resistance of the parasite to antimalarials, of *Anopheles* vectors to insecticides and the change in biting of *Anopheles* mosquitoes. It is in this context that the Attractants Toxic Sugar Bait or ATSB stations based on the “attract-kill” principle, trapping mosquitoes with a sweet meal attractant containing an oral poison have emerged. ATSBs have had many successes after their use in numerous experimental studies in the control of *Anopheles* vectors, other Culicidae and other insects, effective both outside and inside habitats. We therefore conducted this study with the aim of evaluating the entomological parameters of malaria transmission before the establishment of ATSB stations. It took place in five villages in the circle of Kangaba (Djiguidala, Krikrou, Sambada, Ticko and Ouoronina) and two villages in the circle of Ouélésébougou (Solonkorein and Balala); all in Koulikoro region, Mali. It was of the longitudinal type with monthly transverse passages from July to December 2021. We used three collection methods: night capture on human bait (CN), day capture by pyrethroid spraying and capture by CDC-light trap. UV. We present in the context of this thesis only the data from the CN sessions which allowed us to collect 3289 *An. gambiae s.l.* These mosquitoes mainly bit during the second part of the night between 3 a.m. and 4 a.m. both inside and outside the habitats. They had completed 1 or 2 gonotrophic cycles. Their daily survival rate was high in October and low in December and longevity greater than or equal to 50 days except Solonkorein and Balala. The maximum infection, 0.17 infective bites/person/night was observed in Balala. Our results demonstrate a limitation of vector control methods due to the persistent risk of malaria transmission. Hence the need to develop complementary vector control tools to reinforce the action of those that already existing.

Keywords: ATSB, *Anopheles gambiae s.l.*, Malaria, Vector control, Public health.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes 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 des actes criminels ; 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.