

MINISTÈRE DE
L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

**Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de
Bamako (USTTB)**

Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie (FMOS)



U.S.T.T-B

Année universitaire 2020-2021



N°..../2021

THESE

**Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les
paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les
enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro,
Mali.**

Présentée et soutenue publiquement le 22/10/2020

Devant le jury de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

Par Mr Moussa KONATE

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine (DIPLOME D'ETAT).

JURY

Président : Pr Sékou Fantamady TRAORE

Membres : Dr Drissa COULIBALY

: Dr Yaya KASSOGUE

Co-Directeur : Dr Nafomon SOGOBA

Directeur de thèse : Pr Seydou DOUMBIA



DEDICACES

DEDICACES

Je dédie ce travail

- **À mes très chers parents adoptifs** : Cheickna Camara et Kadia Guindo. J'ai eu beau en chercher mais j'arrive à peine à trouver les mots exacts pour exprimer l'amour et le sentiment de gratitude que j'ai pour vous. Sans doute les personnes les plus importantes pour moi dans ce monde ;vous avez été les acteurs de l'homme que je suis devenu aujourd'hui ; vous qui m'avez pris sous vos bras depuis mes 2 ans jusqu'à nos jours et j'ai toujours eu la sensation que c'est vous qui m'avez mis au monde à travers l'amour et la confiance que vous avez constamment eu à mon égard, je ne cesserai de remercier Allah de vous avoir eu comme parents et je prie pour qu'il vous garde à mes côtés aussi longtemps que possible afin que je puisse vous rendre encore plus fier de moi. Merci infiniment pour tout puisse Allah vous donner une longue vie et vous accorder Jannatul firdaus.

- **À mes parents Biologiques Karim Konate et Mariam Guindo** : Vous avez tout le temps été à mes côtés en me conseillant, en m'encourageant dans mes études et en m'inculquant des valeurs humaines et religieuses. Merci pour tous vos sacrifices qu'Allah vous accorde une longue et pieuse vie garnie de bonne santé et qu'il vous accorde Jannatul firdaus. Je vous aime du fond de mon cœur.



REMERCIEMENTS

REMERCIEMENT

Mes sincères remerciements vont

- **A Allah** Subhanahu wa Ta'ālā le tout miséricordieux le très miséricordieux l'omniscient l'omnipotent.
- **A mes encadreurs Dr Nafomon Sogoba et Moussa Keita.** Merci pour votre patience, vos conseils, votre responsabilité et la qualité de l'enseignement. Qu'Allah vous accorde une longue vie.
- **A mes frères et Sœurs** Daouda Konaté, Mamadou Konaté, Ousmane Konaté, Adama Konaté, Sidiki Konaté, Lassina Konaté, et Mata Konaté. Merci pour les encouragements durant tout ce long parcours.
- **A la Famille Konaté : Mes oncles** Sidiki Konaté, Adama Konaté, Yacouba Konaté. **Mes tantes** Habiba Konaté, Kadia Konaté, Hawa Konaté, Nana Konaté.
- **A la famille Guindo :** Kassim Guindo, Rokia Guindo, Batoma Guindo.
- **A ma Grande mère Sadia Konaté** qui a toujours eu confiance en moi et qui m'a constamment soutenu.
- **A la famille Hagge Maiga et Arama :** Aminata Hagge, Bibata Hagge, Leila Hagge, Abdramane Hagge, Cheick Hagge, Leila Maiga, Hali Maiga, Aicha Maiga, Modibo Arama et Fousseyni Arama.
- **A la Famille Camara :** Younouss Camara, Abdoulaye Camara, Mme Camara Fatoumata Gaya Touré.
- **A mes belles sœur** Bintou Dicko, Gafouré Konaté, Maimouna Camara.
- **A ma très chère tendre et bien-aimée Fiancée et sa sœur jumelle** Aoua Coulibaly et Adam Coulibaly
- **A ma Famille du Point G :** Khatrino Ben Mohamed, Aboubacar Makalou, Mohamed Samaké, Feu Bakary Camara, Baba Elhadje Cisse, Abdoul Wahab Sarr, Ramata Traore, Ramatoulah Yena, Djenebou Cisse, Anna Keita, Feu Bintou Konte, Fanta H Toure, Aboubacar Yamadou Sidibe, Abdoulaye Sidibe, Lala Mariam Cisse, Faiçal Mohamed, Korka Inna Traore,

- **A mes amis du Point G :** Alpha Diallo, Amadou B Toure, Idrissa Sangare, Bakary Coulibaly, Malamine Sacko, Najim Ben Barka, Mohamed Emile Dembele, Salif Thiam, Seydina Oumar Maguiraga , Ramata Traore, Nansa Kante, Yahaya Keita, Wakery Doucoure, Issa Kone, Cheick Oumar Seck,
- **A mes amis du quartier** Sekouba Daou, Youssouf Fofana, Souleymane Kamite, Bourama Niare, Siaka Sangare, Emmanuel Diarra, Mahamadou Sangare, Manda Goita, Djambala Gory, Cheickna Konate,
- **Aux personnels du MRTC Ibrahim « Jensky » Sissoko,** Bourama Traore, Moussa Diallo, Dr Guindo, Dr Cheick Coulibaly, Makan Camara, Karim Sawadogo, David Dembélé, Kossa Koné, Abdallah Cissako, Hamidou Ongoïba, Harouna Ballo, Dr Daouda Niaré, Dr Alahay Maïga, Dr Penda Sangaré, Rabiadou Mariko, Oumar kassogue, Bintou Kanoute, Dr Drissa Konate, Dr Madou Coulibaly
- **A mes amis du MRTC** Mohamed Lamine Maiga, Dr Amadou Bassoum, Dr Alou Keita, Dr Sirima Samake, Dr Bakaina Diarra, Abdramane Cisse,
- **A la grande famille des Rassembleurs des Secouristes et des Reformateurs (RASERE),**
- **A l'Association des Etudiants Soniké du Mali (AESM)**
Recevez tous par ces quelques mots mes remerciements les plus sincères pour vos encouragement vos conseils ainsi que vos accompagnements. Puisse Allah vous récompenser.



**HOMMAGES AUX
MEMBRES DE JURY**

HOMMAGE AU MEMBRE DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Sékou Fantamady TRAORE

- **Ph.D en entomologie médicale**
- **Professeur Honoraire de Génétique et de Biologie cellulaire**
- **Ex Co-directeur du MRTC et Ex-Directeur du département d'entomologie et des maladies à transmission vectorielle**

Cher Professeur, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse en dépit de vos multiples et importantes occupations. Vos admirables qualités scientifiques, sociales et humaines, votre grandeur d'esprit, votre disponibilité et votre modestie font de vous un maître exceptionnel, respecté et admiré de tous. La lumière de vos multiples enseignements continue d'illuminer nos pas.

Cher Maître, permettez-nous de vous exprimer notre humble et profonde gratitude.

A notre Maître et Juge

Docteur Drissa COULIBALY

- **Docteur en Médecine**
- **Ph.D en Parasitologie et Entomologie Médicales**
- **Attaché de recherche en Parasitologie-Mycologie à la FMOS**
- **Post-Doc Fellow du Malaria Research Capacity Development in West and Central Africa (MARCAD)**
- **Responsable du site de Bandiagara**

Cher Maître, la spontanéité admirable avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail prouve une fois de plus votre engagement sans faille pour notre encadrement. Votre sens élevé du devoir ; votre disponibilité et votre excellence dans le travail force l'admiration.

Soyez rassuré de notre estime à votre égard et que Dieu vous accorde une vie glorieuse.

A notre maître et membre de jury

Docteur Yaya KASSOGUE

- **Docteur en médecine**
- **Enseignant chercheur**
- **Ph.D en génétique et pathologie moléculaire**
- **Maître de conférences en génétique et pathologie moléculaire à la FMOS,**
- **Lauréat du prix de thèse pharo en 2009 à Marseille, France.**
- **Investigateur principal du projet « Etude de la pharmacogénétique des ARV au Mali.**

Cher maître, Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos nombreux engagements professionnels. Votre assiduité, votre disponibilité, votre courage, votre sens élevé de responsabilité sont des qualités qui ont forcé notre admiration.

Veillez accepter cher Maître, l'expression de notre plus haute considération. Puisse Allah veiller sur vous !

A notre Maître et Co-directeur de thèse

Docteur Nafomon SOGOBA

- **Ph.D en épidémiologie**
- **Responsable des unités Epidémiologie/GIS/RS et Acarologie du MRTC**
- **Directeur du département d'entomologie et des maladies à transmission vectorielle du MRTC**

Cher Maître, ce travail est avant tout le fruit de vos efforts. Plus qu'un co-directeur de thèse, vous avez été un guide, conseiller, et un modèle pour nous. Vous avez dirigé ce travail avec amour et joie sans aucune réserve. Votre disponibilité constante, votre simplicité, votre amour pour le travail bien fait, votre patience et surtout votre vigilance font de vous un maître respectable et admiré. Merci pour votre soutien et les conseils que vous nous avez prodigués. Permettez-nous cher maître de vous adresser l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Seydou DOUMBIA

- **Professeur Titulaire en Epidémiologie à la FMOS**
- **Doyen de la Faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS) de l'USTTB**
- **Directeur du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC)**
- **Enseignant Chercheur à la FMOS**
- **Ex-Directeur Adjoint du département d'entomologie et des maladies à transmission vectorielle du MRTC**

Cher maître, Nous compter parmi vos étudiants fut un immense honneur dont nous nous glorifions. Vous restez pour nous un modèle et une référence tant par votre expérience, votre ouverture d'esprit et votre parcours professionnel. Ce travail ne serait possible sans votre rigueur, votre détermination et votre volonté d'assurer une formation de qualité. Vos nombreuses qualités humaines et scientifiques vous rendent enviable et difficilement imitable ; bien que difficile souhaiterions emboîter vos pas.

Recevez ici cher maître, toute notre gratitude et l'expression de notre plus profond respect.



LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

SIGLES ET ABREVIATIONS

ABTS: 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid

An: Anopheles

BB: Blocking buffer

BM: Blood meal

Bti: *Bacillus thuringiensis israelensis*

C: Celsius

CPS: Chimio Prévention Saisonnier

CTA: Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine

Etc: Et cetera

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

H : Heure

IM : Intramusculaire

IS : Indice sporozoïtique

IV : Intraveineuse

Kd : Knocked Down

Kg : Kilogramme

LLINS: Long Lasting Insecticidal Nets

MIDLA : moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action

m.a : Agressivité

mg : milligramme

MRTC: Malaria Research and Training Center

N : Nombre

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P : Plasmodium

PBO : Pipéronyl butoxyde

PBS : Phosphatase buffer saline

PCR : Polymerase Chain Reaction

PID : Pulvérisation intra domiciliaire

PMI : President's malaria initiative

PNLP : Programme National de lutte contre le Paludisme

PSC : Pyrethrum spray-catch

s.l : Sensus lato

s.s : sensus stricto

SP : Sulfadoxine Pyriméthamine

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

t : temps

TA : Taux d'Anthropophilie

TDR : Tests de diagnostic rapide

TIE : Taux d'inoculation entomologique

TPI : Traitement préventif intermittent

% : Percentage



LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Liste des figures

Figure 1 : Cycle biologique du Plasmodium.....	5
Figure 2 : Schémas de la morphologie générale d'un moustique adulte	8
Figure 3 : Cycle biologique de l'Anopheles gambiae.....	9
Figure 4 Les différents états de réplétion de l'abdomen des anophèles femelles.....	11
Figure 5 : Carte des sites d'études (Source : MRTC GIS Lab. Juillet 2021)	17
Figure 6 : Photo montrant une séance de "Pyrethrum spray-catch"	19
Figure 7 : Composition d'An. gambiae s.l. pendant et après l'arrêt de la PID.	22
Figure 8 : Variation de la densité mensuelle d'An. gambiae s.l. en fonction de la pluviométrie pendant et après l'arrêt de la PID dans les sites d'étude, district de Koulikoro.	23
Figure 9 : Variation des taux d'agressivité mensuelle d'An. gambiae s.l. pendant et après l'arrêt de la PID dans les sites d'étude, district de Koulikoro	24
Figure 10 : Variation du taux d'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans les sites d'étude, district de Koulikoro pendant et après l'arrêt de la PID.....	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Variation du taux d'anthropophilie d' <i>An.gambiae s.l.</i> pendant et après l'arrêt de la PID dans les sites d'étude, district de Koulikoro.....	25
Tableau 2 : Variation du taux d'infection d' <i>An.gambiae s.l.</i> pendant et après le retrait de pulvérisation intradomiciliaire	26
Tableau 3 : Variation du taux d'inoculation entomologique d' <i>An. gambiae s.l.</i> pendant et après la pulvérisation intradomiciliaire dans les sites d'étude , district de Koulikoro	27



TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

1	Introduction.....	1
2	Objectifs.....	3
2.1	Objectif général.....	3
2.2	Objectifs spécifiques.....	3
3	Généralités.....	4
3.1	Le Parasite.....	4
3.1.1	Le Cycle chez le moustique (sporogonie).....	4
3.1.2	Le cycle chez l'homme (Schizogonie).....	4
3.2	Le vecteur.....	6
3.2.1	Taxonomie.....	6
3.2.2	Bio-écologie des Anophèles.....	6
3.2.3	Reproduction.....	8
3.2.4	Comportement de piquêre et de repos.....	9
3.2.5	Digestion et maturation des œufs.....	10
3.3	Lutte anti-vectorielle.....	11
3.3.1	La lutte anti-larvaire.....	11
3.3.2	Lutte contre les adultes (ou imagos).....	13
3.4	Manifestation clinique et diagnostic du paludisme.....	14
3.4.1	Manifestations cliniques.....	14
3.4.2	Diagnostic du paludisme.....	15
3.5	Prise en charge du paludisme.....	15
3.5.1	Stratégie préventive.....	15
3.5.2	Stratégie curative.....	15
4	Matériels et Méthodes.....	17
4.1	Site d'étude.....	17
4.2	Type et période d'étude.....	18
4.3	Echantillonnage.....	18
4.4	Collecte et traitement des moustiques.....	18
4.4.1	Capture des moustiques au pyrèthre "Pyrethrum spray-catch".....	18
4.4.2	Capture de faune résiduelle matinale par aspiration à bouche.....	19
4.4.3	Traitement des moustiques capturés.....	20
4.4.4	Détection passive des cas.....	20
4.5	Saisie et Analyses de données.....	20

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

4.6	Considération Ethique	21
5	Résultat	22
5.1	Composition d' <i>An. gambiae s.l.</i>	22
5.2	Paramètre entomologique de la transmission.....	23
5.2.1	Variations de la densité.....	23
5.2.2	Variations de l'agressivité.....	24
5.2.3	Variations des taux d'anthropophilie.....	25
5.2.4	Taux d'infection d' <i>An. gambiae s.l.</i>	26
5.2.5	Taux d'inoculation entomologique.....	27
5.3	Taux d'incidence du paludisme.....	28
6	Commentaires et Discussions	29
6.1	Composition vectorielle	29
6.2	Paramètres entomologiques de la transmission et de l'incidence	29
7	Conclusion et Recommandations.....	31
7.1	Conclusion.....	31
7.2	Recommandations	31
8	Référence bibliographique	32
9	ANNEXES	35



INTRODUCTION

1 INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique du genre *Anopheles*.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans son dernier rapport sur le paludisme, publié en décembre 2020, affirme que le nombre de cas de paludisme dans le monde est passé de 228 millions en 2018 à 229 millions en 2019. Le nombre de décès dus à la maladie était estimé à 409.000 en 2019 contre 411.000 en 2018. Selon ce même rapport, le paludisme reste encore un problème majeur de santé publique pour les pays d'Afrique sub-saharienne. En effet, 94% des cas de paludisme et des décès causés par cette maladie surviennent dans cette région. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont les plus exposés avec un nombre de décès estimé à 274 000, soit 67 %, du nombre de décès total (1)

Au Mali, le Système Local d'Information Sanitaire (SLIS) rapporte que le paludisme était à la base de 32% des motifs de consultation dans les structures socio-sanitaires en 2018 et représente la première cause de mortalité soit 22% parmi l'ensemble des pathologies enregistrées dans les structure sanitaires (2).

Parmi les plus de 3 000 espèces de moustiques décrites dans le monde, seule une soixantaine, appartenant au genre *Anopheles*, peut transmettre des *Plasmodium* à l'homme (3).

En Afrique sub-saharienne le complexe *Anopheles gambiae* (*An gambiae s.l.*) et le groupe *Anopheles funestus* (*An funestus*) sont les vecteurs majeurs de la transmission du paludisme (4). Les principaux vecteurs de la transmission au Mali sont des membres du complexe *Anopheles gambiae* (*An coluzzii*, *An gambiae* sensu stricto (s.s.) et *An arabiensis*) et le groupe *Anopheles funestus* (5).

Quatre des cinq espèces plasmodiales pathogènes pour l'homme se rencontrent fréquemment au Mali avec une prédominance de *Plasmodium falciparum* (responsable des formes cliniques mortelles) suivi de *Plasmodium malariae*, de *Plasmodium ovale* de *Plasmodium vivax* (6–8).

Au Mali la stratégie nationale de lutte contre le paludisme repose sur la prise en charge correcte et précoce des cas, la chimioprévention par le traitement Préventif Intermittent (TPI) chez la femme enceinte et la Chimioprévention du Paludisme Saisonnier (CPS) chez les enfants de 3 à 59 mois. A ceux-ci s'ajoutent la lutte antivectorielle par l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation intradomiciliaire (PID) dans certains districts sanitaires. La mise en œuvre de ces deux outils de lutte

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

antivectorielle à grande échelle a permis une réduction considérable de la mortalité et de la morbidité palustre ces 20 dernières années (9).

De 2008 à 2016, le programme national de lutte contre le paludisme (PNLP) avec l'appui financier de l'Initiative du Président américain contre le paludisme (PMI) a mis en œuvre une campagne de PID dans les districts sanitaires de Bla et Koulikoro, un troisième district, Baraoueli, a été ajouté en 2011 aux deux précédents. Ces années de PID ont permis une réduction significative de la transmission du paludisme dans ces zones (10,11). Mais le coût élevé de la stratégie a conduit à limiter son application au seul district de Mopti en 2017 en raison de la prévalence élevée observée dans ce district. Pendant la dernière année de PID dans le district de Koulikoro, tous les indicateurs de la transmission étaient significativement réduits comparés à ceux de son district voisin Banamba (10,11). Mais depuis l'arrêt de la PID dans le district de Koulikoro, aucune étude entomologique et parasito-clinique n'a été menée pour examiner les tendances des indicateurs entomologiques et parasito-cliniques de la transmission. L'objectif de cette étude est de comparer les indicateurs de la transmission pendant et deux ans après l'arrêt de la PID dans le district Koulikoro.



OBJECTIFS

2 OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Évaluer les tendances des indicateurs entomologiques de la transmission et de l'incidence du paludisme pendant et après l'arrêt de la pulvérisation intradomiciliaire dans le district de Koulikoro.

2.2 Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques sont :

- décrire la composition spécifique du complexe *Anopheles gambiae* pendant et après l'arrêt de la PID dans le district de Koulikoro;
- comparer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme pendant et après l'arrêt de la pulvérisation intradomiciliaire dans le district de Koulikoro ;
- comparer l'incidence du paludisme simple chez les enfants de 6 mois à 10 ans pendant et après l'arrêt de la pulvérisation intradomiciliaire dans le district de Koulikoro.



GENERALITES

3 GENERALITES

3.1 Le Parasite

Cinq espèces plasmodiales sont connues pour être capables d'infecter l'homme ; il s'agit de *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium knowlesi*. Cette dernière espèce ne se trouve qu'en Asie du Sud-est et infecte principalement les primates non-humains (12).

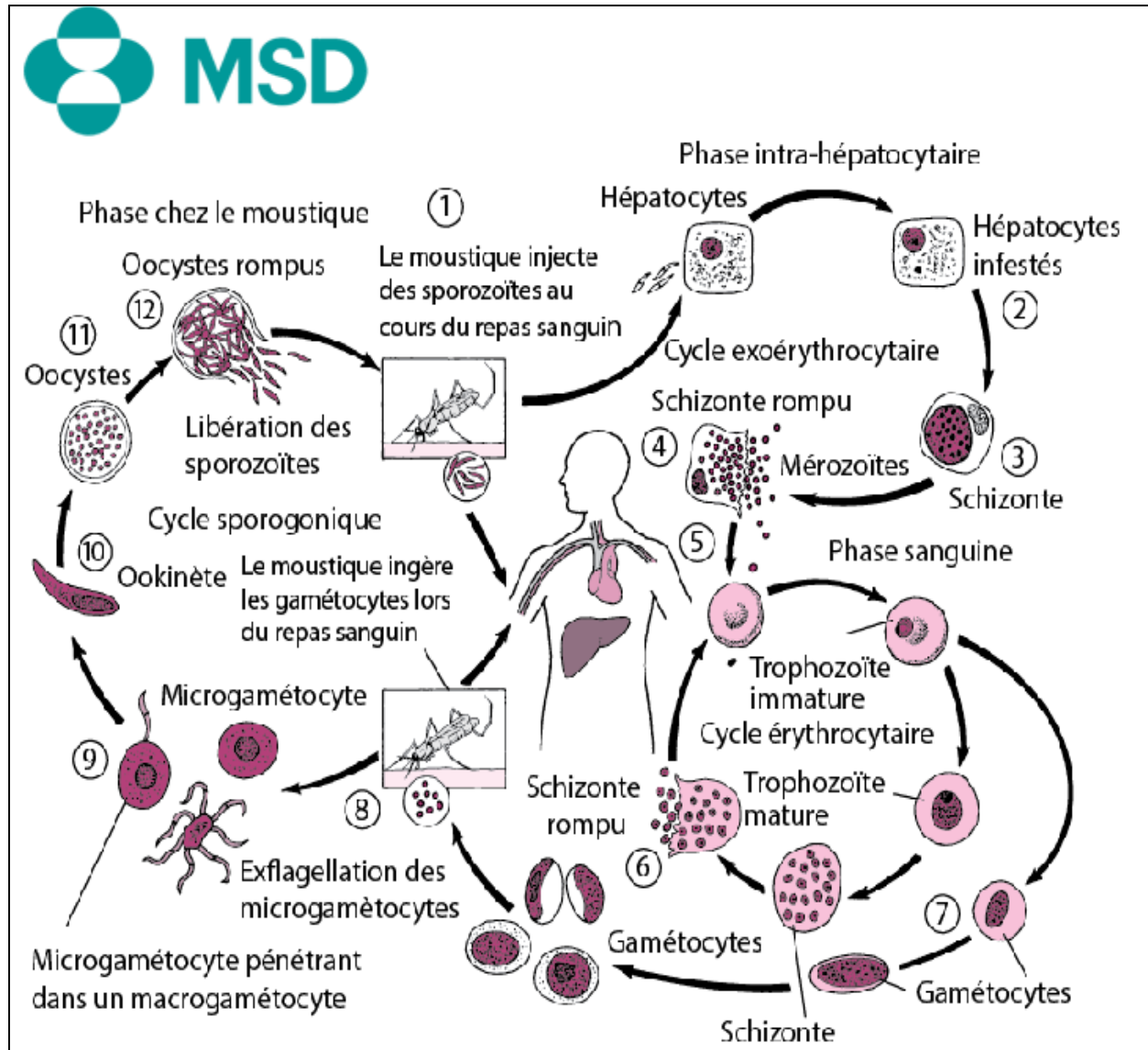
Le cycle de développement du Plasmodium se déroule en deux phases : phase asexuée chez l'homme (hôte intermédiaire) et phase sexuée chez le moustique (hôte définitif).

3.1.1 Le Cycle chez le moustique (sporogonie)

Chez l'anophèle femelle, s'effectue un cycle sexué nommé sporogonie. Au cours du repas sanguin chez un sujet infecté ; le moustique ingère du sang contenant des gamétocytes. Dans l'estomac du moustique, ces gamétocytes se transforment en gamètes mâles et femelles. La fécondation du gamète femelle par le gamète mâle donne un œuf mobile (ookinète) qui traverse la paroi gastrique de l'anophèle et se fixe au niveau de sa face externe formant l'oocyste. A l'intérieur de l'oocyste, le noyau se divise à répétition formant un grand nombre de sporozoïtes et entraînant un grossissement de l'oocyste. Lorsque les sporozoïtes sont complètement développés, l'oocyste se rompt et les libère dans la cavité générale du corps du moustique. Ils migrent alors vers les glandes salivaires de l'anophèle qui les injecte à l'homme à l'occasion d'une piqûre. Les facteurs climatiques influent beaucoup sur le cycle sporogonique des *Plasmodium* : pour *P. falciparum* il peut varier entre 9 et 20 jours (entre, respectivement, 30 °C et 20 °C) (13).

3.1.2 Le cycle chez l'homme (Schizogonie)

Au cours d'un repas de sang, le moustique femelle infecté injecte à travers sa salive plusieurs sporozoïtes qui atteignent le sang ensuite le foie et pénètrent dans les cellules hépatiques (hépatocytes). Alors une reproduction asexuée par schizogonie se produit aboutissant à la formation de mérozoïtes. L'hépatocyte infecté éclate libérant de très nombreux mérozoïtes dans le sang qui pénètrent dans les hématies et s'y transforment en trophozoïtes qui grossissent, formant un schizonte puis un corps en rosace. Les hématies infectées éclatent, libérant des mérozoïtes qui infestent de nouvelles hématies ainsi de suite. Après plusieurs cycles, certains trophozoïtes se transforment en gamétocytes femelles et mâles qui seront ingérés par l'anophèle femelle (14).



Source : Le Manuel MSD Version pour les professionnels de santé (https://www.msmanuals.com/fr/professional/multimedia/figure/inf_plasmodium_life_cycle_fr)

Figure 1 : Cycle biologique du Plasmodium

3.2 Le vecteur

3.2.1 Taxonomie

Les *anophèles* font partie du règne animal, à l'embranchement des *arthropodes*, à l'ordre des *diptères*, au sous-ordre des *nématocères*, à la famille des *culicidés*, à la sous-famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles*. *Anopheles gambiae* est le principal vecteur de la transmission sur le continent africain. Le complexe *Anopheles gambiae* est un ensemble d'espèces génétiquement différente, mais identique morphologiquement. Ce groupe comprend neuf espèces à savoir : *An. amharicus* Hunt et al, 2013 ; *An. arabiensis* Patton, 1905 ; *An. bwambae* Blanc, 1985, - *An. gambiae* Giles, 1902, *An. coluzzii* Coetzee et Wikerson 2013, *An. melas* Theobald, 1903, *An. comorensis* Bruhnes, 1997, *An. merus* Dönitz, 1902, *An. quadriannulatus* Theobald 1911(15).

3.2.2 Bio-écologie des Anophèles

Le cycle de développement des anophèles comprend deux phases : l'une aquatique qui correspond aux trois premiers stades de vie (œuf, larve, nymphe) ; et l'autre aérienne qui correspond au stade adulte (imago) (16).

- **L'œuf**

La femelle d'anophèle pond environ 50 à 300 œufs, de forme allongée. Les œufs sont de couleur blanche à la ponte puis brunissent. Ils sont pondus de façon isolée, sur la surface de l'eau, et disposent habituellement deux flotteurs latéraux (17). La température influe beaucoup sur l'éclosion des œufs : à 30 °C ils éclosent entre 2 et 3 jours après l'oviposition ; 7 et 14 jours à la température de 16°C (12).

- **La larve**

Il existe quatre stades de développement larvaires (L1 ; L2 ; L3 ; L4). La larve qui sort immédiatement de l'œuf est appelée stade L1. Elle mue un ou deux jours après, se débarrassant de son enveloppe et devient ainsi le stade L2, puis passe ensuite aux stades L3 et L4 à des écarts d'à peu près deux jours chacun. La larve reste au stade L4 environ trois ou quatre jours ou plus, avant de se transformer en puppe. Le stade larvaire dure généralement huit à douze jours à la température normale de l'eau en milieu tropical (18). La larve d'anophèle se pose parallèlement à la surface de l'eau pour pouvoir respirer dû au fait qu'elle ne possède pas de siphon respiratoire. Elle est composée morphologiquement de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen.

- **La nymphe**

Au terme de la vie larvaire ; la cuticule de la larve se clive longitudinalement pour laisser apparaître une nymphe. Elle est sous forme de virgule ou de puppe. Son corps comprend deux parties : le céphalothorax et l'abdomen.

- Le céphalothorax : porte deux trompettes respiratoires traversant la surface de l'eau, ces trompettes assurent la respiration aérienne de la nymphe.
- L'abdomen comprend huit segments bien visibles, la contraction de l'abdomen coordonne les mouvements saccadés de la nymphe. La durée de vie de la nymphe est en général un à deux jours (19).

- **L'adulte**

La nymphe émerge en moustique adulte mâle ou femelle qui comporte morphologiquement trois (03) parties qui sont : la tête, le thorax et l'abdomen.

- ❖ **La tête**

Elle comporte :

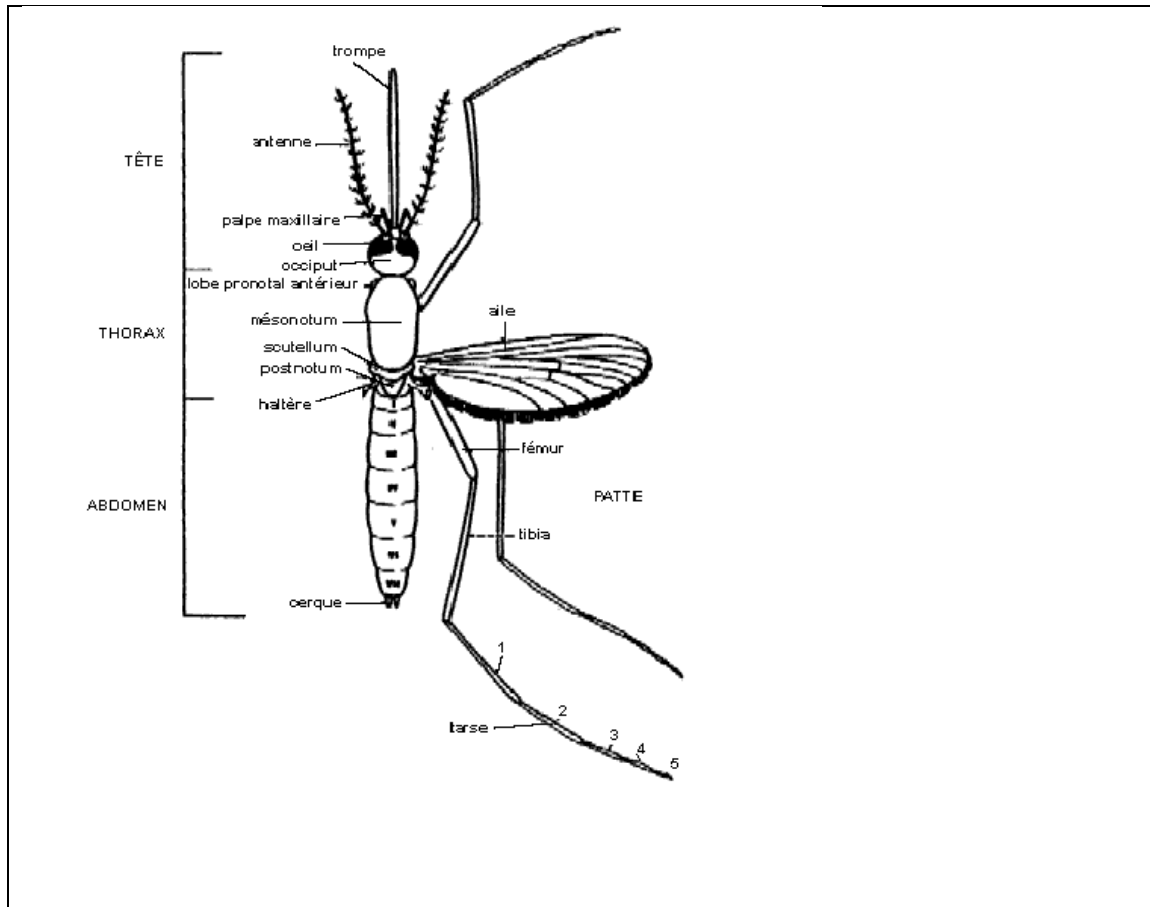
- deux gros yeux ;
- une paire d'antennes comprenant les organes récepteurs de l'olfaction ; longues et plumeuses chez les mâles, courtes et moins fournies chez les femelles ;
- un appareil buccal de type suceur pour les mâles et de type vulnérant (trompe, ou proboscis) pour les femelles ;
- deux palpes maxillaires aussi longs que la trompe chez les femelles ; avec des extrémités renflées et portant des soies chez les mâles.

- ❖ **Le thorax**

Il est formé de trois segments (prothorax, mésothorax, métathorax) portant chacun une paire de pattes. Le deuxième segment appelé le segment alaire est le plus développé, Il comprend les muscles du vol et porte une paire d'ailes membraneuses. Et sur le troisième est placé une paire d'haltères ou balanciers et qui joue un rôle dans l'équilibration du vol.

- ❖ **L'abdomen**

Il est constitué de dix segments, dont sept sont bien visibles composés chacun d'une plaque chitineuse dorsale et ventrale et reliée entre eux par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de la prise d'un repas de sang. Les trois derniers segments portent l'anus et les appareils génitaux (20).

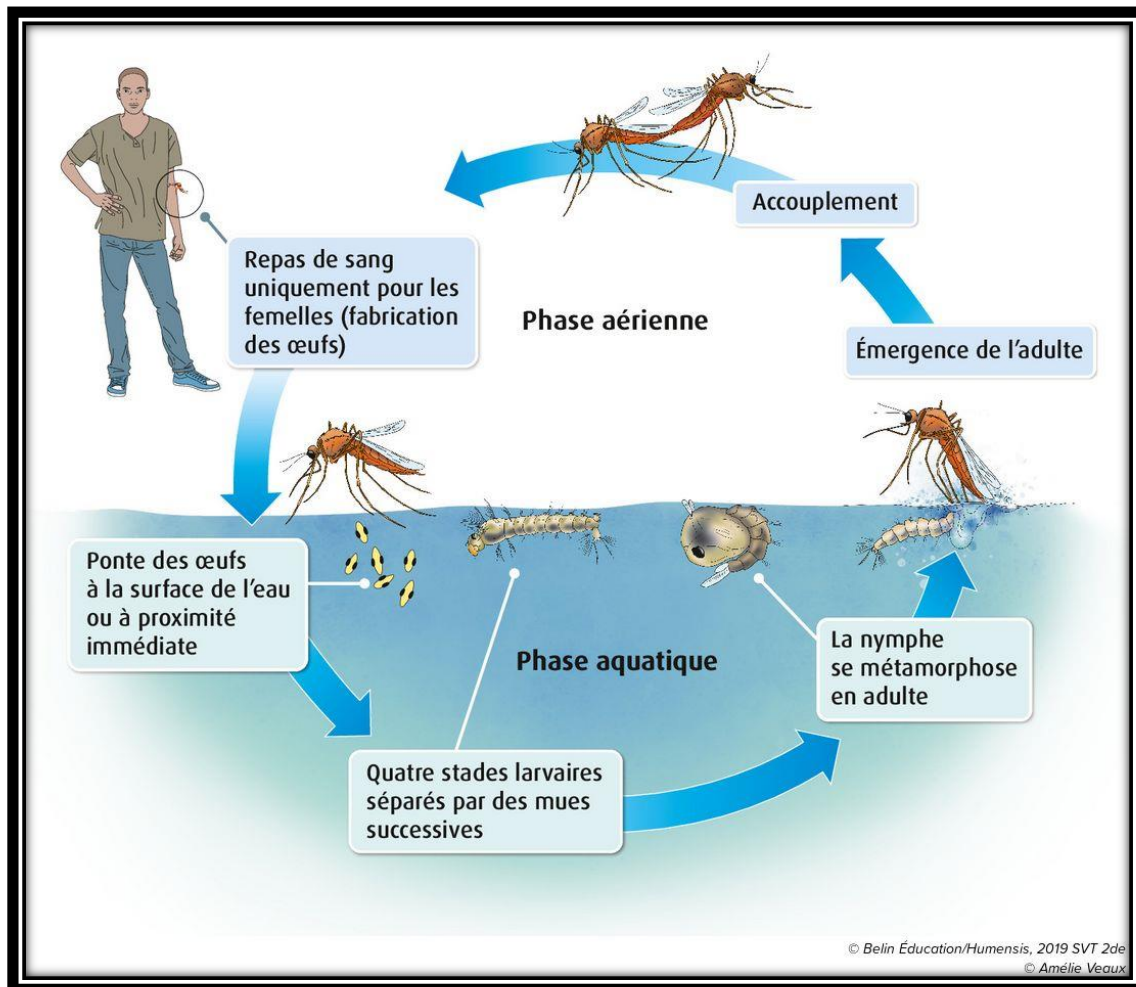


Source <https://books.openedition.org/irdeditions/10388?lang=fr>

Figure 2 : Schémas de la morphologie générale d'un moustique adulte

3.2.3 Reproduction

Les moustiques s'accouplent en général dans les 24 à 48 heures après l'émergence et une seule fois suffit à la femelle pour recevoir assez de spermatozoïdes pour féconder ses œufs durant toute sa vie. Les femelles sont alléchées dans des essaims formés par les mâles pendant le crépuscule et le petit matin aux abords des habitats. L'intérieur des habitations humaines peut aussi servir de lieu d'accouplement (21). La femelle prélève progressivement les spermatozoïdes stockés dans le spermathèque pour féconder la totalité des œufs qu'elle produit. Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un repas sanguin, mais une femelle vierge peut également prendre le repas sanguin. Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces) tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul (21).



Source : <https://manuelnumeriquemax.belin.education/svt-seconde/topics/svt2-ch13-246-a#svt2-ch13-246-03>

Figure 3 : Cycle biologique de l'*Anopheles gambiae*

3.2.4 Comportement de piqûre et de repos

La plupart des espèces d'anophèles piquent la nuit. Certaines piquent juste après le coucher du soleil, d'autres piquent aux environs de minuit ou même au petit matin. Les espèces qui piquent à l'intérieur des maisons sont appelées endophages, et celles qui préfèrent piquer à l'extérieur sont des exophages.

Les désirs trophiques des moustiques varient en fonction de l'espèce. Les anthropophiles sont les espèces qui préfèrent prendre du sang sur l'homme plutôt que sur les animaux, et les zoophiles sont ceux qui préfèrent le sang des animaux. Les espèces anthropophiles sont considérées comme

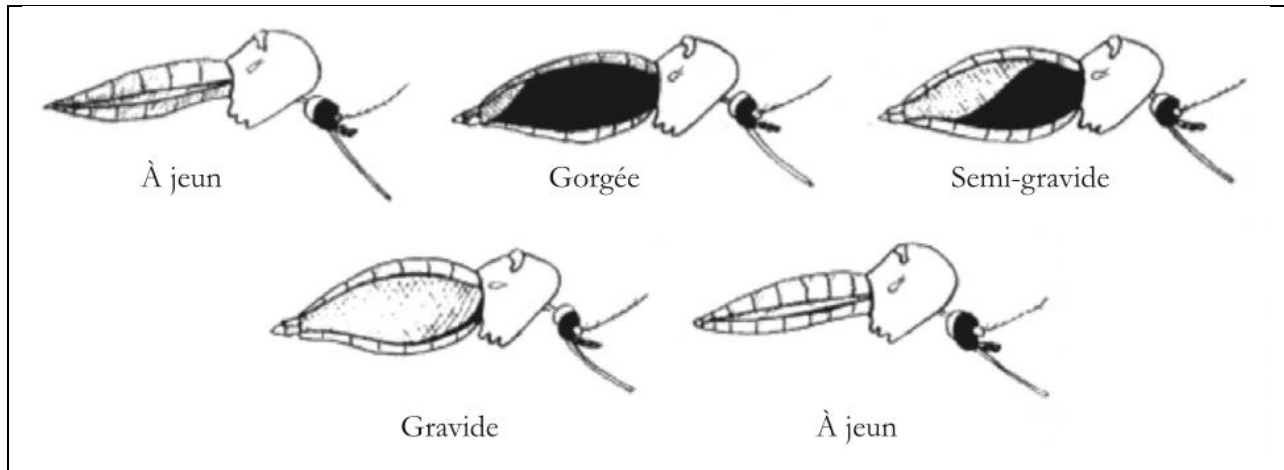
plus dangereuses car elles sont capables de transmettre la maladie d'homme à homme. Seules les femelles prennent un repas de sang, les mâles se nourrissent de jus sucrés qu'ils puisent sur les plantes.

Après le repas de sang le moustique se repose pendant un petit moment. Ceux qui après avoir piqué se reposent habituellement dans la maison sont dits endophiles. Ceux qui après avoir piqué se reposent habituellement à l'extérieur des maisons sont dits exophiles (22).

3.2.5 Digestion et maturation des œufs

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

- **Femelles à jeun** : femelles n'ayant pas encore pris un repas de sang.
- **Femelles gorgées** : femelles ayant pris fraîchement un repas de sang ; l'abdomen apparaît rouge clair ou sombre à cause du sang ingéré. Les ovaires occupent une petite place à l'extrémité de l'abdomen, ils ne sont pas rouges et concernent deux segments sur la face ventrale et, tout au plus, 5 segments sur la face dorsale.
- **Femelles semi-gravides** : abdomen à moitié noirâtre contenant du sang en digestion, avec la partie apicale blanche du fait du développement des ovaires qui occupent la plus grande partie.
- **Femelles gravides** : femelles ayant développé des œufs conservés encore dans l'abdomen. Le sang est réduit en une petite tache sombre sur la face ventrale. Les ovaires occupent le reste de l'abdomen.



Source : <https://books.openedition.org/irdeditions/10389>

Figure 4 Les différents états de réplétion de l'abdomen des anophèles femelles

Une fois à maturité, l'ovocyte lors de son passage dans l'oviducte est fécondé par les spermatozoïdes conservés dans la spermathèque et devient un œuf (23).

3.3 Lutte anti-vectorielle

L'une des stratégies fondamentales dans la lutte contre le paludisme se trouve être la lutte anti vectorielle ; son but est de réduire la population de moustique (densité et durée de vie), d'empêcher les piqûres, de combattre l'accroissement des gîtes larvaires. Il est prouvé que la lutte anti vectorielle entraîne une réduction ou une interruption de la transmission du paludisme lorsque sa couverture est amplement large (24). On note deux méthodes prépondérantes de lutte anti-vectorielle : la lutte anti-larvaire et la lutte contre les moustiques adultes (25).

3.3.1 La lutte anti-larvaire

Elle consiste à éliminer des larves avant qu'elles ne deviennent des moustiques adultes. Cette lutte peut être de différentes méthodes : biologique, physique ou chimique.

❖ La méthode biologique

Elle consiste à introduire dans le biotope des moustiques d'autres espèces qui leur sont naturellement fatales. Les poissons larvivores (Les poissons qui se nourrissent de larves de moustiques) sont l'exemple le plus connu. Ils ont été employés dès que le rôle des moustiques dans la transmission du paludisme a été élucidé (avec l'utilisation du vert de Paris comme larvicide) (26).

En dehors des poissons larvivores on a :

- les moustiques dont les larves se nourrissent des larves d'autres moustiques appelés moustiques prédateurs comme *Toxorhynchites*,
- les Bactéries Larvicides comme *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* et *Bacillus sphaericus* qui produisent des toxines qui tuent les larves après ingestion.

❖ **La méthode Physique**

C'est une modification volontaire du biotope, qui a pour but d'éliminer ou de réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface qui servent de lieu de développement des moustiques. Entre autres on a :

- **Le drainage**

Il consiste à drainer les eaux du gîte vers un milieu récepteur naturel (cours d'eau, terrain perméable etc.). Les œufs et les larves seront entraînés vers des milieux défavorables à leur développement où ils seront détruits rapidement.

- **La mise en boîte**

Elle consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, afin de réduire la superficie du gîte à empoissonner. Cette méthode est utilisée dans le cas des gîtes importants où le drainage paraît inefficace. La mise en tranchée nécessite la connaissance du volume d'eau dans le gîte.

- **Le comblement**

Elle consiste à éliminer les gîtes à l'aide de matériaux (pierres, débris de construction). Cette méthode est surtout utilisée pour des gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne.

- **Le boisement**

La plantation d'arbres hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau de faible débit mais d'écoulement continu bénéfique et rentable.

- **Rectification des berges**

On peut rectifier les berges des cours d'eau, des fossés et des étangs en leur donnant un tracé rectiligne et en augmentant leur pente de sorte qu'il y ait moins d'endroits de faible profondeur propice à la reproduction des moustiques.

❖ **La méthode chimique**

Elle consiste à répartir de façon uniforme et périodique, une certaine quantité de pesticide sur la surface de l'eau qui abrite les gîtes larvaires et d'exposer ainsi les larves à des substances

naturelles ou de synthèse qui provoquent leurs morts par empoisonnement. Les pesticides les plus utilisés sont les organophosphorés (26).

3.3.2 Lutte contre les adultes (ou imagos)

Les deux méthodes essentielles de lutte contre les vecteurs adultes sont l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide à effet rémanent (PID) (27).

❖ Les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA)

L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) est une méthode très efficace dans la lutte contre le paludisme. La généralisation de leur utilisation, peut donner un espoir de réduction d'environ 20% de la mortalité infantile dans les régions d'endémie palustre (28). Elle peut avoir 4 effets :

- effet dissuasif diminuant le taux d'entrée des moustiques dans la maison en les tenant à grande distance ;
- effet excito-répulsif qui pousse les moustiques à sortir de la maison augmentant ainsi l'attitude d'exophilie ;
- effet kd (Knocked Down) sur les moustiques entrant en contact avec la moustiquaire imprégnée d'insecticide, qui sont assommés par l'effet du produit ;
- effet létal : les moustiques qui restent en contact avec la moustiquaire imprégnée d'insecticide seront tués dans les 24H (26).

❖ La pulvérisation intradomiciliaire

La pulvérisation d'insecticide à effet rémanent à l'intérieur des habitations est l'aspersion d'insecticides chimiques à longue durée d'action sur les murs et les toits des maisons dans le but de tuer les moustiques vecteurs adultes se posant sur ces surfaces (29). Elle a pour avantage la réduction de la durée de vie des moustiques ainsi que leur densité afin d'interrompre la chaîne de transmission du parasite du paludisme. De nos jours 5 familles chimiques ont été recommandées par l'OMS dans le cadre de la PID à savoir les pyréthriinoïdes, les organochlorés, les carbamates, les organophosphorés et les néonicotinoïdes. Après la pulvérisation, les moustiques une fois en contact avec les surfaces traitées (murs, plafonds) ingèrent une dose mortelle du pesticide (24). La PID ne procure pas de protection individuelle, la couverture doit au moins atteindre au

minimum 85% afin d'avoir un impact sur la santé publique. La PID n'est pas non plus adaptée à protéger les maisons individuelles géographiquement dispersées.

3.4 Manifestation clinique et diagnostic du paludisme

3.4.1 Manifestations cliniques

✓ Le paludisme de primo-invasion

Elle est caractérisée par une phase d'incubation asymptomatique qui dure 7 à 12 jours puis survient la phase d'invasion caractérisée par l'apparition d'une fièvre brutale continue et irrégulière accompagnée de céphalée anorexie et parfois de troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées...). A ce stade l'examen clinique est normal, pas d'hépatosplénomégalie mais plus tard une hépatomégalie douloureuse survient particulièrement chez l'enfant. Au bout de quelques jours survient ensuite une splénomégalie, les urines deviennent rares et foncées. C'est la forme qui survient généralement chez les individus sans prémunition tels que les enfants et les personnes voyageurs en zone d'endémie.

✓ Paludisme simple « accès palustre »

Parfois se manifeste par des céphalées et/ou des vomissements ; l'accès palustre est caractérisé par des accès fébriles intermittents avec :

- une phase de frissons caractérisée par une sensation de froid extrême et une hyperthermie qui dure environ une heure ;
- une phase de chaleur avec une température allant de 40 à 41°C durant trois ou quatre heures ;
- une phase de sueurs pendant laquelle la température chute brutalement avec émissions des sueurs abondantes.

Ces 3 phases sont appelées la triade classique de l'accès palustre.

✓ Paludisme grave : « accès pernicieux palustre » ou neuro-paludisme

Le paludisme simple non traité peut conduire vers un paludisme grave ou neuro paludisme. Ce dernier se caractérise par une hyperthermie allant de 39 °C à 42 °C accompagné des troubles de la consciences (coma calme) ainsi que des convulsions. Des symptômes viscéraux tels que :

hépatosplénomégalie, des troubles de la coagulations, œdème aigue des poumons, collapsus, anémie et ictère peuvent être associés. (30)

3.4.2 Diagnostic du paludisme

Le diagnostic de certitude du paludisme est posé par la recherche directe dans le sang à l'aide d'un microscope des formes parasitaires par le frottis sanguin et/ou la goutte épaisse. Ces techniques servent à repérer rapidement le plasmodium dans le sang, à quantifier la charge parasitaire, et à déterminer l'espèce plasmodiale. En plus de ces méthodes microscopiques il y'a des tests de diagnostic rapide (TDR) basés sur la recherche de protéines spécifiques ou un antigène du parasite (31).

3.5 Prise en charge du paludisme

3.5.1 Stratégie préventive

En plus de la lutte antivectorielle, il existe d'autres stratégies préventives contre le paludisme à savoir : Traitement préventif intermittent du paludisme (TPI) chez les femmes enceintes qui consiste à administrer de façon systématique au moins 3 doses de Sulfadoxine Pyriméthamine (SP) dès le 4^e mois de la grossesse avec au moins un mois d'intervalle entre chaque dose (32). Et la Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) chez les enfants de 3 mois à 59 mois qui est une recommandation de l'organisation mondiale de la santé OMS depuis 2012 aux pays où la transmission du paludisme est saisonnière (33). Cette dernière stratégie consiste en une administration intermittente de protocoles thérapeutiques complets d'antipaludiques aux enfants pendant la saison du paludisme dans des zones où la transmission a un caractère fortement saisonnier (34).

3.5.2 Stratégie curative

Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine CTA (Arthémeter-Lumefantrine, Artésunate-Amodiaquine ; Artésunate+sulfadoxine-pyriméthamine) sont recommandées par l'OMS pour le traitement du paludisme simple non compliqué. Pour le traitement du paludisme grave l'Artésunate injectable doit être administré par voie intraveineuse (IV) ou intramusculaire (IM) pendant au moins 24 heures et dès que le traitement par voie orale est possible elle sera poursuivie par une dose complète de CTA pendant 3 jours (35). Le mode d'administration de l'Artésunate injectable est de 2,4 mg/kg de poids corporel chez l'adulte et les enfants de plus de 20kg et de 3mg/kg par dose chez les enfants de moins de 20kg comme première dose (t = 0), puis

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

la même dose à $t = 12$ h et $t = 24$ h ensuite une dose par jour jusqu'à ce que le traitement par voie orale soit possible (36). A défaut de l'Artésunate injectable la quinine ou l'Artéméther peuvent être des alternatives.



**MATERIELS ET
METHODES**

4 MATERIELS ET METHODES

4.1 Site d'étude

Cette étude a été réalisée dans les villages de Karadié et de Koula dans le district sanitaire de Koulikoro. Plusieurs mesures de lutte contre le paludisme sont mises en œuvre dans ces deux villages à savoir la CPS chez les enfants de 3 à 59 mois, le TPI par la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) chez les femmes enceintes et les MILDA. A ces mesures de lutte s'ajoute la PID de 2008 à 2016. Ces villages sont caractérisés par un climat de type soudano-sahélien avec une saison de pluies allant de juin à novembre. Le vent dominant est l'harmattan en saison sèche et la mousson en saison pluvieuse. L'agriculture est la principale activité économique suivie de l'élevage et du commerce. Les principales cultures emblavées sont le mil, le sorgho, le fonio, l'arachide et un peu de riz comme cultures vivrières à celles-ci s'ajoutent le coton et le sésame comme industrielles. La population est majoritairement constituée par les Bambaras suivis des peulhs.

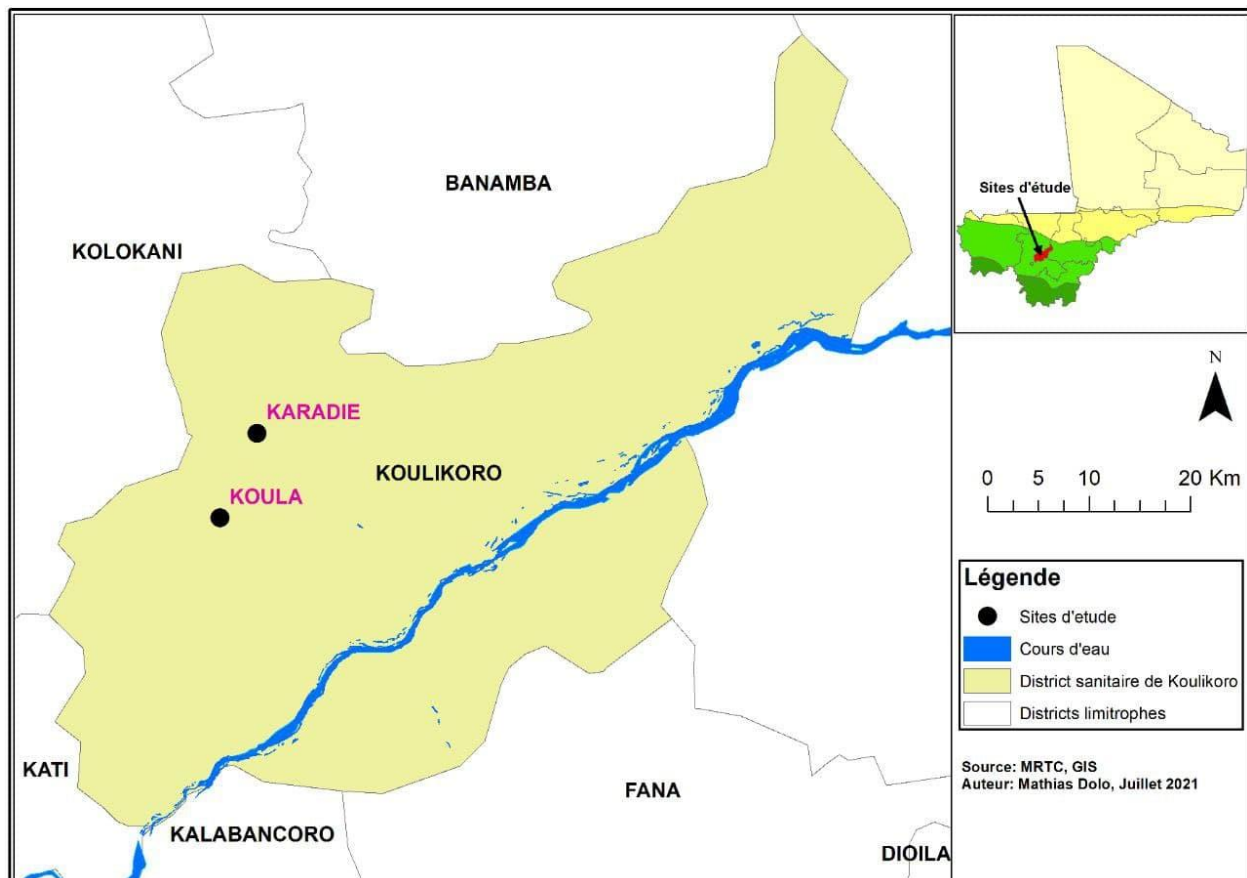


Figure 5 : Carte des sites d'études (Source : MRTC GIS Lab. Juillet 2021)

4.2 Type et période d'étude

Cette étude était de type longitudinal et allant d'août à novembre en 2016 et 2018.

4.3 Echantillonnage

En 2016, 30 chambres ont été choisies dans 30 concessions différentes sélectionnées de façon aléatoire sur la liste des concessions de chacun des deux villages pour la collecte de la faune résiduelle matinale. Par contre en 2018, la collecte a été faite 40 chambres choisies dans 40 concessions aléatoirement sélectionnées sur la liste des concessions de chacun des deux villages. Un suivi passif des cas de paludisme chez les enfants âgés de 6 mois à 10 ans dont les parents ont consenti de participer à l'étude dans les deux sites d'étude a été établi.

4.4 Collecte et traitement des moustiques

En 2016 la collecte des moustiques a été faite par la technique de capture au pyrèthre ou "Pyrethrum spray-catch" (PSC), alors qu'en 2018, elle l'a été à d'aspirateurs à bouche. Tous les deux types de capture ont eu lieu dans les habitations humaines.

4.4.1 Capture des moustiques au pyrèthre "Pyrethrum spray-catch"

Trois séances de capture par PSC ont été organisées dans chaque village en raison de 10 cases par séance durant trois jours consécutifs. Les captures avaient lieu le matin de 07h à 10h. Avant de procéder à la pulvérisation, les objets et les aliments pouvant être contaminés par l'insecticide étaient enlevés de la chambre. Des draps blancs étaient ensuite étalés pour recouvrir complètement le plancher et les surfaces plates de la chambre. Toutes les fenêtres et portes étaient ensuite fermées. La pulvérisation de l'insecticide était faite par un guide du fond de la pièce vers la porte en reculant petit à petit jusqu'à ce que la chambre soit remplie d'un fin brouillard d'insecticide. La porte de la chambre était alors rapidement fermée pendant 5 à 10 minutes. Au terme de ce temps tous les draps étaient repris en prenant soins de rassembler tous les moustiques morts ou moribonds tombés dessus sans les écrasés (figure 6A, B, C, et D).

Les moustiques femelles étaient décomptés et différenciés en fonctions de leurs états de réplétion (à jeun, gorgée, semi gravide, gravide) et conservés dans des tubes à Eppendorf contenant du silicagel et ou de l'alcool dilué à 70%. Les moustiques de chaque chambre étaient conservés séparément. Les informations telles que la date de capture, la localité, la méthode utilisée, le nombre de dormeurs, le type de case, le nombre de moustiques capturés et leurs états de

réplétions, le nom du propriétaire de la chambre étaient notés sur une fiche technique conçue à cet effet.



Figure 6 : Photo montrant une séance de "Pyrethrum spray-catch"

A : Installation des draps dans les chambres lors du spray-catch

B : Pulvérisation de la chambre lors du spray-catch

C : Ramassage des draps de spray-catch

D : Collecte de moustiques sur drap après pulvérisation

4.4.2 Capture de faune résiduelle matinale par aspiration à bouche

Cette méthode consistait à capturer les moustiques à l'aide d'un aspirateur à bouche. Une séance hebdomadaire de capture par aspirateur à bouche était effectuée dans les 40 cases choisies dans chaque village d'étude par une équipe de 8 captureurs formés par notre équipe de recherche entre 7h et 9h du matin. Chaque captureur muni d'un aspirateur et d'une torche recherchait les moustiques dans tous les coins et recoins de la chambre et les collectait à l'aide de l'aspirateur.

Les femelles d'*An. gambiae s.l.* capturés étaient décomptées et différenciées en différents états de réplétion (à jeun, gorgée, semi gravide, gravide) et conservées ensuite dans des tubes contenant du silicagel et/ou de l'alcool dilué à 70% . Leurs nombres étaient portés sur une fiche de rapport de cas.

4.4.3 Traitement des moustiques capturés

Les spécimens d'*An. gambiae* collectés ont été morphologiquement identifiés en utilisant la technique de Gillies et al (37,38). Une partie des spécimens du complexe *an. gambiae* a été identifiée par PCR en utilisant la technique de Fanello (39). Les moustiques étaient partitionnés en deux parties sous l'objectif d'une loupe binoculaire. La portion tête-thorax de tous les états de réplétion étaient testés à l'ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) pour la détection de l'infection à *Plasmodium falciparum* (40). L'origine du repas sang contenu dans l'abdomen des femelles gorgées et semi-gravides était déterminée par la technique enzymatique par sandwich (ELISA) (41,42).

4.4.4 Détection passive des cas

Notre cohorte était de 950 enfants âgés de 6 mois à 10 ans durant les deux périodes d'étude dont les parents ont consenti de participer à l'étude.

Une permanence médicale quotidienne était assurée par les agents de santé pour suivre cette cohorte d'enfant de 6 mois à 10 ans venant pour consultation dans le centre de santé ou chez l'agent de santé communautaire du village. Un test de diagnostic rapide (TDR) de type HRP2 a été réalisé pour confirmer les cas suspects de paludisme (fièvre) chez tous les volontaires venant en consultation. Les cas confirmés de paludisme étaient pris en charge gratuitement par le projet de recherche conformément à la politique nationale.

4.5 Saisie et Analyses de données

Les données ont été saisies dans Excel version 2013 et analysées dans GraphPad Prism 9 et Epi info 7. Les paramètres entomologiques tels que la densité vectorielle, le taux d'agressivité, l'indice sporozoïtique, le taux d'inoculation entomologique, le taux d'anthrophilie ainsi que l'incidence du paludisme ont été mesurés.

➤ Densité des vecteurs par case

La densité des populations de vecteurs au repos dans les habitations est le nombre moyen de moustiques vecteurs récoltés par case après pulvérisation au pyrèthre.

➤ **Agressivité des vecteurs par rapport à l'homme (m.a)**

C'est le nombre moyen de piqûres d'une espèce donnée, reçues par une personne pendant une période donnée. Elle est obtenue en faisant le rapport de la somme de femelles gorgées et semi-gravides de l'espèce capturées dans une chambre par le nombre total de personnes ayant dormis dans cette chambre.

➤ **Indice sporozoïtique (IS)**

C'est la proportion de spécimens d'une espèce vectrice donnée hébergeant des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires. Elle peut aussi être exprimée en pourcentage. Elle s'obtient en faisant le rapport du nombre de moustiques porteurs d'antigène circumsporozoïtique (IAS) par le nombre total de moustiques testés à l'ELISA.

➤ **Taux d'anthropophilie (TA)**

Le Taux d'anthropophilie est la proportion de femelles d'une espèce d'anophèle ayant pris leur repas de sang sur un humain. On l'obtient en divisant le nombre de moustiques ayant pris du sang d'origine humaine par le nombre total testé à l'ELISA multiplié par 100.

➤ **Taux d'inoculation entomologique (h)**

C'est le nombre de piqûres infectantes reçues par une personne pendant un intervalle de temps donné (nuit, mois, ou année). On l'obtient en faisant le produit de l'IS et du m.a.

➤ **Le taux d'incidence du paludisme**

C'est le nombre de nouveaux cas de paludisme (numérateur) dans une population donnée à risque (dénominateur) pendant une période donnée. On l'obtient en faisant le rapport du nombre d'enfants avec un TDR positif par le nombre total d'enfants suivie (950).

Le test de Khi carré de Pearson a été utilisé pour comparer les proportions.

4.6 Considération Ethique

Cette étude a reçu l'approbation du comité d'éthique de la faculté de Médecine et d'Odontologie à travers la lettre Numéro 2014/51/CE/FMPOS. La permission communautaire des chefferies locales des deux villages a été obtenue. Un consentement écrit de tous les propriétaires des cases où ont lieu les collectes des moustiques, des captureurs et de tous les volontaires a également été obtenu.



RESULTATS

5 RESULTAT

5.1 Composition d'*An. gambiae s.l.*

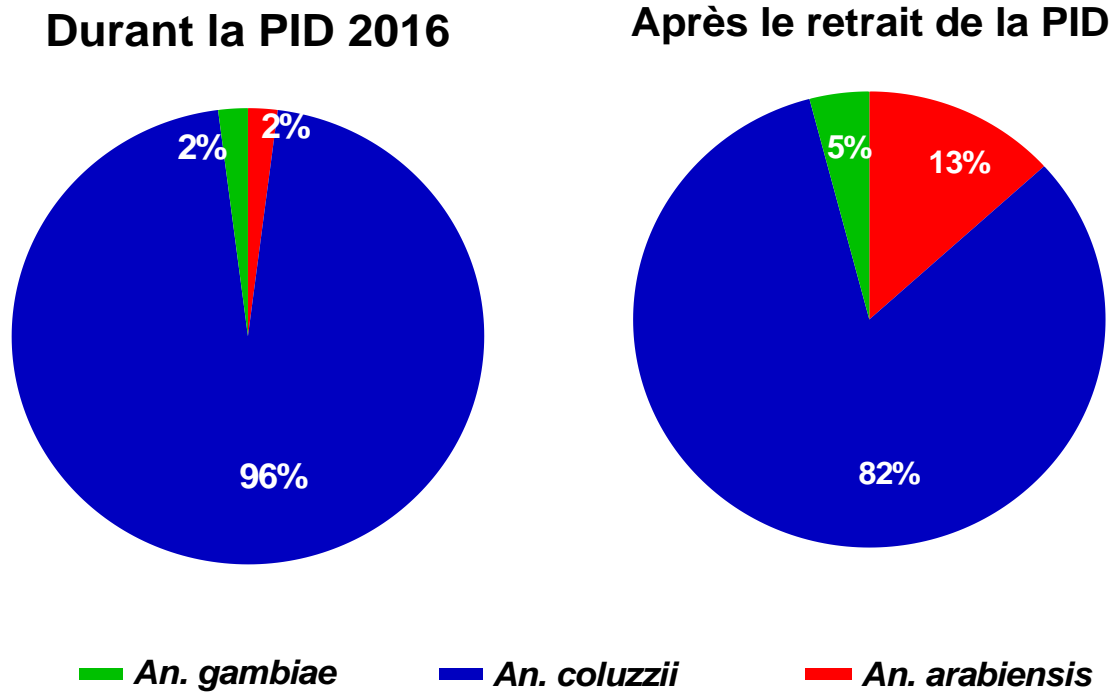


Figure 7 : Composition d'*An. gambiae s.l.* pendant et après l'arrêt de la PID.

L'identification moléculaire d'*An. gambiae s.l.* par PCR a montré la présence de trois espèces pendant les deux périodes à savoir : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis* et *An. coluzzii*. Parmi ces espèces, *An.coluzzii* était l'espèce majoritaire aussi bien en 2016 pendant la PID (96%, N= 93) qu'en 2018 après l'arrêt de la PID (82%, N= 204). Il n'y avait pas de différence statistiquement significative dans la composition d'*An. gambiae s.l.* pendant les deux périodes($\chi^2 =0,917$; P=0,64).

5.2 Paramètre entomologique de la transmission

5.2.1 Variations de la densité

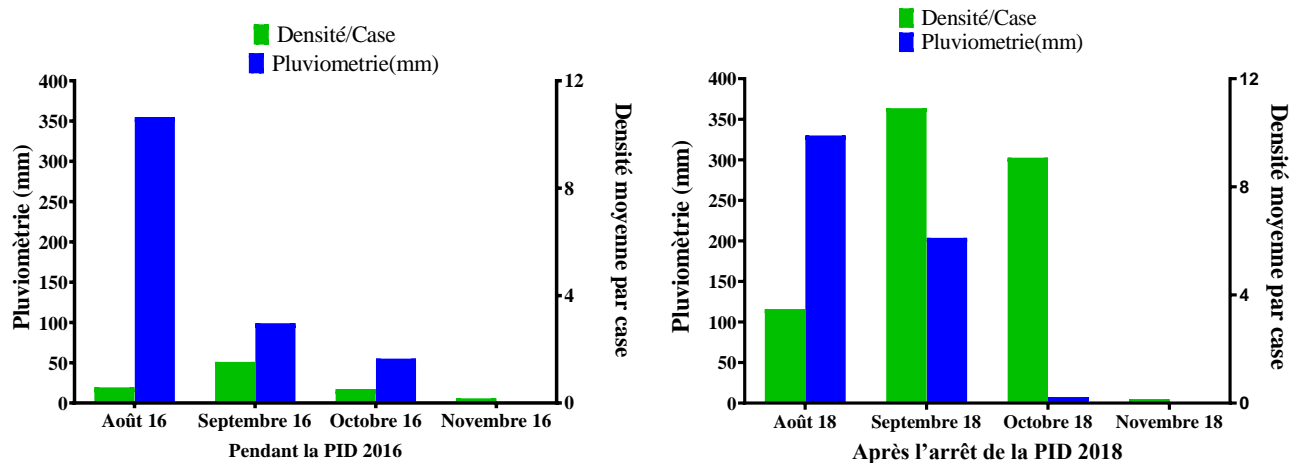


Figure 8 : Variation de la densité mensuelle d'*An. gambiae s.l.* en fonction de la pluviométrie pendant et après l'arrêt de la PID dans les sites d'étude, district de Koulikoro.

La figure 8 montre des variations mensuelles des densités d'*An gambiae s.l.* pendant et après l'arrêt de la PID. Pendant la PID, les densités étaient faibles malgré les variations de la pluviométrie. Par contre, deux ans après l'arrêt de la PID, on observait une variation synchrone de la densité et de la pluviométrie. La densité moyenne d'*An gambiae s.l.* par case était 8,42 fois (5,90/0,70) plus élevée deux ans après l'arrêt de la PID que pendant sa mise en œuvre. Les plus fortes densités pendant ces deux périodes ont été observées pendant les mois de septembre 2016 et 2018 avec respectivement 1,53 et 10,91 moustiques par case.

5.2.2 Variations de l'agressivité

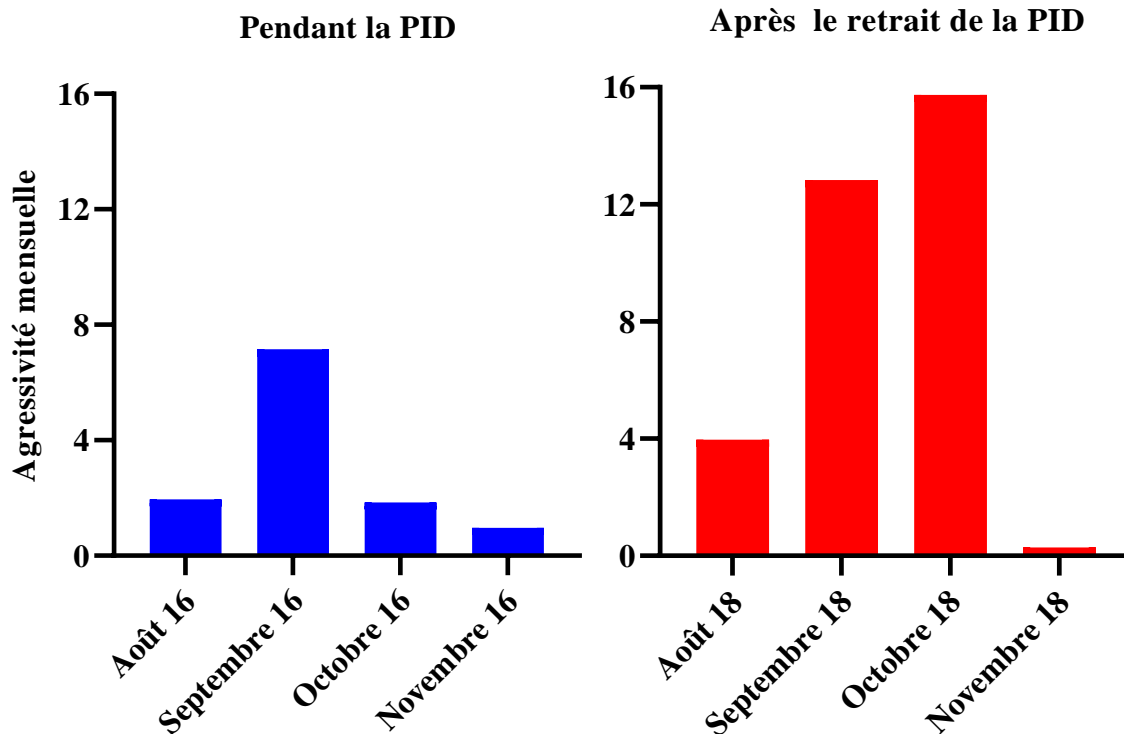


Figure 9 : Variation des taux d'agressivité mensuelle d'*An. gambiae* s.l. pendant et après l'arrêt de la PID dans les sites d'étude, district de Koulikoro

Le taux d'agressivité moyen était plus élevé après l'arrêt de la PID ($8,11 \pm 7,28$ piqûres/personne/mois) qu'au cours de la PID ($2,98 \pm 2,82$ piqûres/personne/mois). Des variations mensuelles de ce taux étaient observées pendant les deux périodes. Les pics d'agressivités ont été observés pendant le mois de septembre (7,15) pendant la PID et au mois d'octobre (15,74) après l'arrêt de la PID. Les plus faibles taux d'agressivité ont été enregistrés en novembre avec respectivement 0,97 et 0,28 piqûres/personnes/mois pendant et après la PID.

5.2.3 Variations des taux d'anthropophilie

Tableau 1 : Variation du taux d'anthropophilie d'*An.gambiae* s.l. pendant et après l'arrêt de la PID dans les sites d'étude, district de Koulikoro.

Mois/Année	Durant la PID 2016			Après le retrait de la PID 2018		
	N* testé	N positif	*TA	N* testé	N positif	TA
Août	18	16	88,89	169	96	56,80
Septembre	66	58	87,88	571	429	75,13
Octobre	17	12	70,59	617	455	73,74
Novembre	9	4	44,44	12	12	100,00
Total/Moyenne	110	90	72,95	1369	992	76,42

*N= nombre ; *TA : Taux d'anthropophilie

Le taux d'anthropophilie moyen était de 72,95% pendant la PID et de 76,42% après l'arrêt de la PID. Le taux le plus élevé était enregistré en août pendant la PID soit 88,89% et en novembre après l'arrêt de la PID soit 100%. Cependant, il n'y avait pas de différence significative entre le taux d'anthropophilie moyen des deux périodes ($\chi^2=0,948$; P = 0,3302).

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

Tableau 2 : Variation du taux d'infection d'*An.gambiae s.l.* pendant et après le retrait de pulvérisation intradomiciliaire

Mois/Année	Durant la PID 2016			Après l'arrêt de la PID 2018		
	N* testé	N positif	IS	N* testé	N positif	IS
Août	35	0	0.00	278	6	2,16
Septembre	92	0	0.00	873	104	11,91
Octobre	31	0	0.00	726	168	23,14
Novembre	10	0	0.00	12	2	16,67
Total	168	0	0.00	1889	280	14,82

Les 168 spécimens collectés et testés par ELISA, ne nous ont pas permis de révéler une infection à *P. falciparum* lors de la période de mise en œuvre de la PID. Mais deux ans après l'arrêt de la PID, le taux d'infection était de 14,82%. Le pic d'infection était observé en octobre (23,14%) en fin de saison de pluies.

5.2.5 Taux d'inoculation entomologique

Tableau 3 : Variation du taux d'inoculation entomologique d'*An. gambiae* s.l pendant et après la pulvérisation intradomiciliaire dans les sites d'étude , district de Koulikoro

Mois/Année	Durant la PID 2016			Après l'arrêt de la PID 2018		
	Agressivité	IS	TIE	Agressivité	IS	TIE
Août	1,95	0,00	0	3,97	0,02	0,08
Septembre	7,15	0,00	0	12,84	0,12	1,54
Octobre	1,84	0,00	0	15,74	0,23	3,62
Novembre	0,97	0,00	0	0,28	0,17	0,05
Moyenne	2,98	0,00	0	8,11	0,15	1,22

Pendant la PID les échantillons testés n'avaient permis de détecter une transmission. Après l'arrêt de la PID, le TIE moyen était de 1,22 piqûres infectantes par personne par mois. Le TIE le plus élevé a été enregistré en octobre (3,62 piqûres infectantes par personne par mois).

5.3 Taux d'incidence du paludisme

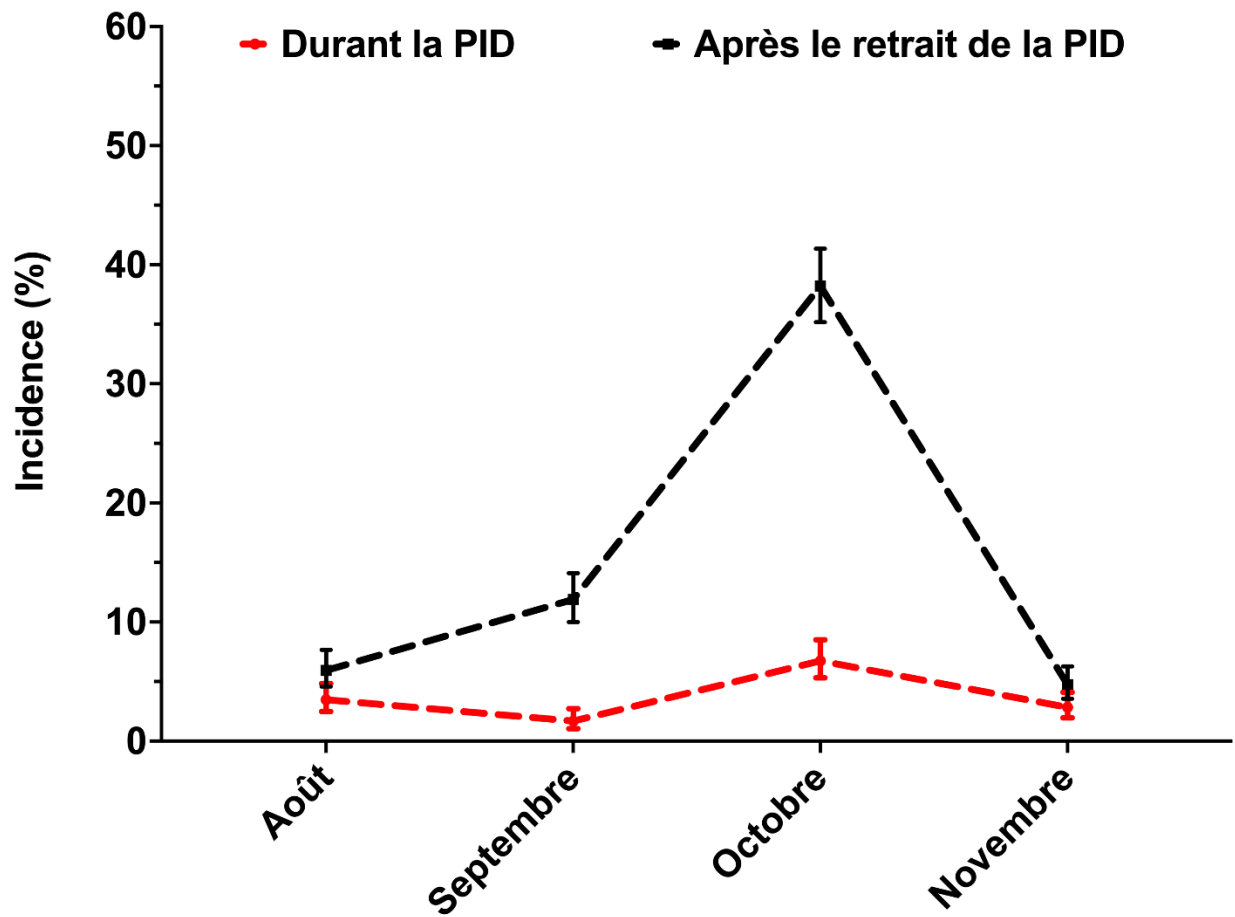


Figure 10 : Variation du taux d'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans les sites d'étude, district de Koulikoro pendant et après l'arrêt de la PID

La figure 10 montre une augmentation significative de l'incidence du paludisme après l'arrêt de la PID ($X^2=9,716$; $P=0,0018$). Dans les deux cas, le pic a été observé en octobre avec 6,74% et 38,21% respectivement pendant et après la PID. Le taux d'incidence moyen observé après l'arrêt de la PID était de 3,75 fois (15/4) plus élevé que celui observé pendant la PID.



**COMMENTAIRES ET
DISCUSSION**

6 COMMENTAIRES ET DISCUSSION

La PID a été instaurée par le PNLP avec l'appui financier du PMI en 2008. Les insecticides utilisés au début étaient la deltaméthrine et lambda-cyhalothrine (pyréthrinoïdes). Après que les moustiques aient développé une résistance à ces insecticides, ils furent remplacés par le bendiocarbe (carbamate) (Bendiocarb) en 2011. Suite à l'observation de la courte durée de vie de ce dernier sur les murs en banco il a été lui aussi remplacé par le pirimiphos-méthyle (organophosphoré) en 2015 (43). Après la campagne de 2016, il a été décidé par les partenaires et PNLP d'arrêter la PID à Koulikoro au profit du district de Mopti où des prévalences élevées de paludisme étaient observées. Il était espéré que les gains observés à Koulikoro seront maintenus avec la couverture universelle en MILDA mise en œuvre depuis 2015 dans ce district. En plus des MILDA d'autres outils de lutte contre le paludisme étaient également en place après le retrait de la PID tels que la chimioprévention du paludisme saisonnier CPS chez les enfants de 3 à 59 mois, le traitement préventif intermittent TPI par la Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) chez les femmes enceintes. Dans cette étude nous avons examiné les tendances des indicateurs entomologiques et parasito-cliniques de la transmission en comparant les paramètres entomologiques de la transmission et de l'incidence du paludisme dans le district de Koulikoro (Koula et Karadié) pendant et deux après l'arrêt de la PID.

6.1 Composition vectorielle

Nos résultats ont montré la présence des trois espèces d'*An gambiae s.l.* généralement rencontrées au Mali qui sont *An. coluzzii*, *An. gambiae*, et *An. arabiensis*. *An.coluzzii* était l'espèce majoritaire pendant les deux périodes ; ceci pourrait être dû à la pullulation des gîtes larvaires propices au développement de cette espèce tels que les trous de banco, flaque d'eau. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par Keita M et al 2014, 2021 et Sogoba et al 2007 (5,44,45).

6.2 Paramètres entomologiques de la transmission et de l'incidence

Des études antérieures avaient montré une réduction significative des paramètres entomologiques et parasito-cliniques dans le district sanitaire de Koulikoro où était mise en œuvre la PID comparé à son voisin immédiat de Banamba où il n'y a pas eu de PID. Les auteurs de ces études avaient attribué cette réduction à la mise en œuvre de la PID (10,11). Deux ans après l'arrêt de la PID nous avons observé une augmentation des paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme par rapport à ceux observés pendant la PID dans les mêmes sites malgré la présence

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

d'autres outils de lutte contre le paludisme (MILDA, CPS, TPI). Cette augmentation pourrait être dû au retrait de la PID.

Des résultats similaires ont été obtenus dans le département de l'Ouémé-Plateau au sud du Bénin (46), en Ouganda (47) et au Ghana (48) où une augmentation des indicateurs du paludismes après l'arrêt de la PID a été observée.



CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7.1 Conclusion

Cette étude a montré une recrudescence de la transmission du paludisme avec une augmentation de tous les indicateurs entomologiques et de l'incidence dans le district sanitaire de Koulikoro seulement deux ans après l'arrêt de la PID en dépit de la couverture universelle en MILDA.

7.2 Recommandations

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes :

➤ **Au PNL**

De restaurer la PID dans le district sanitaire de Koulikoro afin de minimiser les risques de paludisme.

➤ **Aux chercheurs**

De mener une étude multidisciplinaire à large échelle pour comprendre les effets sanitaires et socio-économiques de l'arrêt de la PID dans le district sanitaire de Koulikoro.

➤ **A la population**

D'accroître l'utilisation des MILDA et surtout de participer aux différentes campagnes de CPS pour les enfants de moins de 5 ans et à la consultation prénatale pour les femmes enceintes.

8 REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. OMS. Rapport 2020 sur le paludisme dans le monde. 2020.
2. SLIS. Annuaire Statistique 2018 du système local d'information sanitaire du Mali. 2019.
3. 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. juin 2005;53(3):283-90.
4. James S, Collins FH, Welkhoff PA, Emerson C, Godfray HCJ, Gottlieb M, et al. Pathway to Deployment of Gene Drive Mosquitoes as a Potential Biocontrol Tool for Elimination of Malaria in Sub-Saharan Africa: Recommendations of a Scientific Working Group. Am J Trop Med Hyg. 7 juin 2018;98(6):1-49.
5. Keïta 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. 4 mars 2021;20(1):127.
6. Bernabeu M, Gomez-Perez GP, Sissoko S, Niambélé MB, Haibala AA, Sanz A, et al. Plasmodium vivax malaria in Mali: a study from three different regions. Malar J. 5 déc 2012;11(1):405.
7. Niangaly A, Karthigayan Gunalan null, Amed Ouattara null, Coulibaly D, Sá JM, Adams M, et al. Plasmodium vivax Infections over 3 Years in Duffy Blood Group Negative Malians in Bandiagara, Mali. Am J Trop Med Hyg. sept 2017;97(3):744-52.
8. Doumbo O, Traore SF, Sow Y, Dembele M, Soula G, Coulibaly A, et al. [Impact of curtains and blankets impregnated with permethrin on the malarial indicators and the number of malarial attacks per child in a village in an area hyperendemic for malaria on the Malian savannah (preliminary results of the first year study)]. Bull Soc Pathol Exot 1990. 1991;84(5 Pt 5):761-74.
9. Bhatt S, Weiss DJ, Cameron E, Bisanzio D, Mappin B, Dalrymple U, et al. The effect of malaria control on Plasmodium falciparum in Africa between 2000 and 2015. Nature. 8 oct 2015;526(7572):207-11.
10. Keïta M, Sogoba N, Traoré B, Kané F, Coulibaly B, Traoré SF, et al. Performance of pirimiphos-methyl based Indoor Residual Spraying on entomological parameters of malaria transmission in the pyrethroid resistance region of Koulikoro, Mali. Acta Trop. avr 2021;216:105820.
11. Kané F, Keïta M, Traoré B, Diawara SI, Bane S, Diarra S, et al. Performance of IRS on malaria prevalence and incidence using pirimiphos-methyl in the context of pyrethroid resistance in Koulikoro region, Mali. Malar J. 12 août 2020;19(1):286.
12. Jacob Williams ; Joao Pinto. Manuel de Formation à l'Entomologie du Paludisme A l'intention des techniciens en entomologie et lutte anti-vectorielle (Niveau de base). Vol. 2. 2012. 79 p.
13. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Paludisme. 2016.
14. Encyclopædia Universalis France. Plasmodium : cycle de développement. 2021.
15. Coetzee M. Key to the females of Afrotropical Anopheles mosquitoes (Diptera: Culicidae). Malar J. 13 févr 2020;19(1):70.

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

16. Delaunay P, Fauran P, Marty P. Les moustiques d'intérêt médical. Rev Fr Lab. 1 déc 2001;2001(338):27-36.
17. Carnevale et Vincent Robert. Les anophèles - 2. Morphologie - IRD Éditions. 2009.
18. Traoré AG. Etude de l'infectivité des gamétocytes de Plasmodium falciparum chez Anophèles gambiae s.l issus de différents types de gîtes larvaires en zone d'endémie palustre de Nanguilabougou. 2012;88(12):123.
19. Carnevale P, éditeur. 2. Morphologie. In: Les anophèles : Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. 2017.
20. Carnevale P, Robert V, Manguin S, Corbel V, Fontenille D, Garros C, et al. Les anophèles : biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. 1 janv 2009;
21. Dao A, Adamou A, Yaro AS, Maïga HM, Kassogue Y, Traoré SF, et al. Assessment of alternative mating strategies in Anopheles gambiae: Does mating occur indoors? J Med Entomol. juill 2008;45(4):643-52.
22. G. Roseric AZONDEKON. Memoire Online - Contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées commercialisées ou distribuées au Bénin - G. Roseric AZONDEKON. 2007.
23. Townson H. The biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction. By A.N. Clements. (London: Chapman & Hall, 1992). viii + 509 pp. Hard cover £50. ISBN 0-412-40180-0. Bull Entomol Res. juin 1993;83(2):307-8.
24. OMS | Méthodes de lutte antivectorielle de base [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 2 janv 2021]. Disponible sur: http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/core_methods/fr/
25. Rozendaal JA, Weltgesundheitsorganisation, éditeurs. La lutte antivectorielle: méthodes à usage individuel et communautaire. 75^e éd. Vol. 33. Organisation Mondiale de la Santé; 1999. 270-271 p.
26. Carnevale P, éditeur. 8. Les méthodes de la lutte antivectorielle. In: Les anophèles : Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. Marseille; 2017. p. 153-61.
27. OMS | Entomologie et lutte antivectorielle. WHO. World Health Organization; 2015.
28. OMS | Moustiquaires imprégnées d'insecticide. Manuel à l'intention des responsables de programmes nationaux de lutte antipaludique (archive). World Health Organization; 2003.
29. Choi L, Pryce J, Garner P. Ajout de la pulvérisation intradomiciliaire à effet rémanent dans les communautés utilisant des moustiquaires imprégnées d'insecticide pour la prévention du paludisme. 2017.
30. Marie-Pierre BRENIER-PINCHART, Hervé PELLOUX. Paludisme (99) - Corpus Médical de la Faculté de Médecine de Grenoble - version mobile. 2005.
31. Desoubeaux G, Chandenier J. Diagnostic biologique du paludisme d'importation. Rev Francoph Lab. 1 déc 2017;2017(497):34-43.
32. OMS. OMS | Traitement préventif intermittent du paludisme (TPI) pour les femmes enceintes. WHO. 2014.

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

33. Salissou I, Moustapha LM, Yerima B, Alkassoum I, Hadiza D, Ibrahim ML. Perception de la chimioprévention du paludisme saisonnier au Niger. *Int J Biol Chem Sci.* 2016;10(6):2710-5.
34. OMS | Chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS). WHO. World Health Organization; 2016.
35. OMS | Traitement du paludisme - tour d'horizon [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 2 mars 2021]. Disponible sur: <http://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/fr/>
36. World Health Organization. Management of severe and complicated malaria: a practical handbook. Geneva: World Health Organization; 2012.
37. Gillies MT, De Meillon B. The Anophelinae of Africa south of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). 1968;117(5):305.
38. Gillies MT, Coetzee M. A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afrotropical Region). 1987;98(16):308.
39. 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.* déc 2002;16(4):461-4.
40. Beier JC, Perkins PV, Wirtz RA, Whitmire RE, Mugambi M, Hockmeyer WT. Field evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for *Plasmodium falciparum* sporozoite detection in anopheline mosquitoes from Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* mai 1987;36(3):459-68.
41. Kifude CM, Rajasekariah HG, Sullivan DJ, Stewart VA, Angov E, Martin SK, et al. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Plasmodium falciparum* Histidine-Rich Protein 2 in Blood, Plasma, and Serum. *Clin Vaccine Immunol CVI.* juin 2008;15(6):1012-8.
42. Beier JC, Perkins PV, 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.* janv 1988;25(1):9-16.
43. Cisse MBM, Keita C, Dicko A, Dengela D, Coleman J, Lucas B, et al. Characterizing the insecticide resistance of *Anopheles gambiae* in Mali. *Malar J.* déc 2015;14:327.
44. Keita M, Baber I, Sogoba N, Maïga HM, Diallo M, Doumbia S, et al. [Vectorial transmission of malaria in a village along the Niger River and its fishing hamlet (Kéniéroba and Fourda, Mali)]. *Bull Soc Pathol Exot* 1990. déc 2014;107(5):356-68.
45. Sogoba N, Vounatsou P, Bagayoko MM, Doumbia S, Dolo G, Gosoni L, et al. The spatial distribution of *Anopheles gambiae sensu stricto* and *An. arabiensis* (Diptera: Culicidae) in Mali. *Geospatial Health.* mai 2007;1(2):213-22.
46. Ossè RA, Aïkpon R, Gbédjissi GL, Gnanguenon V, Sèzonlin M, Govoétchan R, et al. A shift from Indoor Residual Spraying (IRS) with bendiocarb to Long-Lasting Insecticidal (mosquito) Nets (LLINs) associated with changes in malaria transmission indicators in pyrethroid resistance areas in Benin. *Parasit Vectors.* 16 mars 2013;6:73.
47. Okullo AE, Matovu JKB, Ario AR, Opigo J, Wanzira H, Oguttu DW, et al. Malaria incidence among children less than 5 years during and after cessation of indoor residual spraying in Northern Uganda. *Malar J.* 7 août 2017;16(1):319.

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

48. Gogue C, Wagman J, Tynuv K, Saibu A, Yihdego Y, Malm K, et al. An observational analysis of the impact of indoor residual spraying in Northern, Upper East, and Upper West Regions of Ghana: 2014 through 2017. Malar J. 11 juill 2020;19(1).

9 ANNEXES

Annexes 1 : Fiche de Spray

CAPTURE DANS LES HABITATIONS HUMAINES

METHODE DE CAPTURE: Spray-catch

LOCALITE:

NOMBRE DE CASES PROSPECTEES:

DATE:/...../2016

ESPECES CAPTUREES: *An.gambiae s.l.*

Room ID	Type	Propriétaire	Dorm	<10Yrs	LLINS	IRS	Jeun	Gorg	S.gr	Grav	Total	Chef de famille
	TOTAL											

Annexes 2 : Protocole pour la détermination de l'infection à *P. falciparum* et de l'origine du repas de sang chez le moustique par la technique Elisa (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

➤ **Recherche de la protéine circumsporozoïtique (CSP)**

-Procédure :

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

Porter les références (date, lieu et méthode de capture, l'espèce capturée) ;

Ajouter 50 µl de BBNP40 (Nonidetp-40) dans chaque tube ;

Ecraser mécaniquement à l'aide de petits pilons et ajouter 200 µl de BB (Blocking buffer) ;

Etablir les fiches correspondant aux plaques de microtitration et réserver des puits pour les témoins ;

Déposer 50 µl de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puits de la plaque de microtitration 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 ;

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.

Les puits colorés en vert correspondent aux moustiques positifs au CSP

-Préparation des solutions

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

Solution de lavage (PBS-Tween) : Dissoudre 9.65 g de PBS (Phosphate Buffer Saline) dans 1000 ml d'eau distillée et ajouter 500 μ l de Tween 20.

Solution d'anticorps monoclonal non marqué : Prendre pour une plaque 5 ml de PBS et ajouter 20 μ l d'anticorps non marqué (Capture MAB Pf2A10-28[210599]).

Solution d'anticorps monoclonal marqué : Prendre pour une plaque 5 ml de BB et ajouter 10 μ l d'anticorps (Pf2A10-CDC15).

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).

➤ Identification du repas de sang: "Blood meal"

-Procédure

Mettre le sang contenu dans l'estomac du moustique dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml et ajouter 50 μ l de PBS ;

Triturer l'ensemble jusqu'à obtenir une solution homogène ; Ajouter 200 μ l de PBS ;

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

Etablir les fiches ;

Déposer 50 µl de solution de repas de sang dans les différents puits selon la fiche préétablie en respectant l'ordre. Laisser incuber pendant trois heures ;

Laver deux fois les plaques avec du PBS-Tween ;

Déposer 50 µl de mélange de la solution D et de la conjugué double (peroxydase pour humain) laisser incuber pendant une heure ;

Laver trois fois les plaques avec du PBS-Tween, déposer 100 µl d'ABTS à la peroxydase et lire après 30 minutes à l'œil nu.

La coloration verte signifie la présence de sang humain.

Relever ces résultats et laver encore deux fois la même plaque avec du PBS –Tween, mettre 100µl de révélateur à la phosphatase par puits et lire après une 1heure de temps ou le lendemain.

La présence de sang de bovin est indiquée par la coloration jaune.

-Préparation des solutions

Solution "D" : ajouter 25 µl de Tween 20 à 100 ml de BB.

Conjugué Double : prendre pour une plaque de 96 puits 5 ml de solution "D", ajouter 2,5 µl de l'anticorps à peroxydase (Affinity purufied Antibody Peroxidase goat Anti human IgG [HY+L]) et 20 µl de phosphatase, vortexer pendant quelques minutes.

Révélateur à la peroxydase : 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.

Annexes 3 : PCR (Polymerase chain reaction) pour l'identification des formes moléculaires

➤ **Protocole d'extraction de l'ADN chez le moustique (Méthode "Salt Extraction" Scott et al. 1993,)**

-Placer les moustiques individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml ;

-Ajouter 25 µl de Grinding Buffer, et broyer le moustique à l'aide d'un pilon Kontes® jusqu'à ce qu'on voit aucun débris au fond du tube

Laver les pilons avec 25 µl de Grinding Buffer. Placer les pilons contaminés dans 1M HCl; ils seront ensuite rincés dans de l'eau savonneuse, puis à l'eau distillée avant être distillée avant stérilisés pour une prochaine utilisation ;

-Centrifuger brièvement pour faire descendre tout l'homogénat au fond du tube (important) ;

-Incuber l'homogénat au bain-marie à 65°C pendant 30 mn ;

-Pendant que les tubes sont encore chauds, ajouter 7 µl d'acétate de potassium à 8moles, mixer ensuite ;

-Incuber sur de la glace pendant 30 mn ;

-Centrifuger à 14000 tours/mn pendant 15 mn dans un micro centrifugeuse et transférer le surnageant dans de nouveaux tubes frais et stériles (lors du transfert, l'embout ne doit pas toucher le culot déposé au fond du tube) ;

-Ajouter 100 µl d'éthanol à 100 % et incuber à la température ambiante pendant 5 mn (on peut arrêter l'extraction à cette étape et reprendre le ultérieurement tout en prenant la précaution de grader les échantillons à – 20°C) et centrifuger à 14000 tours/mn pendant 5 mn ;

-A verser avec précaution l'éthanol 100% sur une serviette en papier et ajouter ensuite 100 µl d'éthanol à 70 %, puis centrifuger à 14000 tours/mn pendant au moins 5 mn. Après cette

dernière centrifugation, il faut verser l'éthanol à 70 % sur une serviette en papier. L'ADN apparaîtra sous forme de pellette (tache incolore) au fond du tube. Si rien n'apparaît, ajouter 100 µl d'éthanol 100% et centrifuger, verser l'éthanol avant de continuer les étapes suivantes ;

-Faire sécher les tubes dans un Speed-Vac ou à l'air libre ;

-Résuspendre l'ADN ainsi obtenu dans 25-50-ou 150 µl de TE (0,05M Tris-HCL, EDTA pH 8,0) ou de l'eau stérile.

Remarque :

- Ajouter 25 µl de TE ou eau stérile si la pellette n'apparaît pas au fond du tube ;
- Ajouter 50 µl si la pellette est à peine visible,

100 µl s'il y en a et 150 µl lorsque la pellette est importante. L'ADN ainsi suspendu, peut être conservé dans un Revco pendant une durée de 6 mois ou plus, dans un congélateur à 20°C. Pour une utilisation à court terme il peut être gardé à 4°C (24h).

➤ **Identification des espèces et des formes moléculaires**

*Il faut au préalable préparer la mixture pour l'identification des espèces du complexes *An.gambiae s.l.* (*An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis*), comme décrit dans le tableau 1. Ajouter 1 µL de l'ADN aux tubes contenant le volume de mixte ;*

Tableau 1 : Préparation de mixture d'identification des espèces A & B.

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

-Placer les tubes dans la machine PTC d'amplification et lancer le programme d'Identification ;

-A la fin du temps d'amplification, il faut lancer le programme de DIGESTION, tout en laissant les tubes dans la machine.

-Ouvrir les tubes un à un et ajouter 10µl d'enzyme Hha1 diluée conformément aux proportions indiquées dans le tableau 2. Il faut le refermer la machine pendant que le programme de DIGESTION est en cours d'exécution.

Tableau 2 : Dilution de l'Enzyme Hha1 pour une réaction de digestion (Fanello et al., 2002).

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

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

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

- Un amplifiât d'un témoin *An. gambiae s.s.* dans le deuxième puits ;

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

- Un amplifiât d'un témoin *An. arabiensis* dans le troisième puits ;
- Un amplifiât d'un témoin Forme M dans le quatrième puits ;
- Un amplifiât d'un témoin Forme S dans le cinquième puits ;

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

Fiche signalétique

Nom : Konate

Prénom : Moussa

Téléphone : 00223 78757534

Email : komoussa2611@gmail.com

Thème : Effet de l'arrêt de la pulvérisation intradomiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

Année de soutenance : 2021

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Secteur d'intérêt : Santé publique, Paludisme, Lutte anti vectorielle,

Résumé : Au Mali la lutte antivectorielle est basée sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation intradomiciliaire (PID). Cette PID était mis en œuvre dans le district sanitaire de Koulikoro de 2008 à 2016. Mais depuis l'arrêt de la PID en 2016 dans ce district aucune étude entomologique et parasito-clinique n'a été menée pour examiner les tendances des indicateurs entomologiques et parasito-cliniques de la transmission. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail dont le but est de comparer les indicateurs de la transmission pendant et deux ans après l'arrêt de la PID dans le district Koulikoro.

L'étude a été réalisée dans les villages de Koula et de Karadié en 2016 pendant la PID et en 2018 après l'arrêt de la PID. Des captures au pyrèthre ou "Pyrethrum spray-catch" (PSC) et par aspirateurs à bouche ont été organisés mensuellement pour déterminer les paramètres entomologiques de la transmission et un suivi passif des cas de paludisme chez les enfants âgés de 6 mois à 10 ans a été établi pendant les deux périodes.

Anopheles gambiae s.l. était la seule espèce vectrice rencontrée pendant les deux périodes et était composé de 3 espèces : *An.coluzzii*, *An.arabiensis* et *An.gambiae*. Parmi toutes ces espèces, *An.coluzzii* était l'espèce majoritaire aussi bien en 2016 pendant la PID (96%, N= 93) qu'en 2018 après l'arrêt de la PID (82%, N= 204).

Effet de l'arrêt de la pulvérisation intra domiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

La densité moyenne d'*An gambiae s.l.* par case était 8,42 fois (5,90/0,70) plus élevée deux ans après l'arrêt de la PID que pendant sa mise en œuvre. Le taux d'agressivité moyen était plus élevé après l'arrêt de la PID (8,11±7,28 piqûres/personne/mois) que pendant la PID (2,98±2,82piqûres/personne/mois). Le taux d'anthropophilie moyen était de 72,95% pendant la PID et de 76,42% après l'arrêt de la PID. Les spécimens collectés et testé par ELISA, ne nous a pas permis de révéler une infection à *P. falciparum* pendant la PID. Mais deux ans après l'arrêt de la PID, le taux d'infection était de 14,82. Le TIE moyen était de 1,22 piqûres infectantes par personne par mois Après l'arrêt de la PID.

Le taux d'incidence moyen observé après l'arrêt de la PID était de 3,75 fois (15/4) plus élevé que celui observé pendant la PID.

En conclusion cette étude a montré une recrudescence de la transmission du paludisme avec une augmentation de tous les indicateurs entomologiques et de l'incidence dans le district sanitaire de Koulikoro deux ans après l'arrêt de la PID.

Mots clés : Paludisme, paramètres entomologiques, incidence, PID.

Name: Konate

First name: Moussa

Phone: 00223 78757534

Email: komoussa2611@gmail.com

Theme: Effect of stopping indoor spraying on entomological parameters and the incidence of malaria in children aged 6 months to 10 years in the health district of Koulikoro, Mali.

Defense year: 2021

Defense city: Bamako

Country of origin: Mali

Place of deposit: FMPOS library

Sector of interest: Public health, Malaria, Vector control,

Summary: In Mali, vector control is based on the use of long-acting insecticide-treated mosquito nets (LLINs) and indoor spraying (IRS). This IRS was implemented in the health district of Koulikoro from 2008 to 2016. But since the cessation of IRS in 2016 in this district, no entomological and parasito-clinical study has been carried out to examine the trends of the entomological indicators and parasito-clinical transmission. This is the framework for this study, which aims to compare indicators of transmission during and two years after the end of IRS in Koulikoro district.

The study was carried out in the villages of Koula and Karadié in 2016 during IRS and in 2018 after the cessation of IRS. Catches with pyrethrum or "Pyrethrum spray-catch" (PSC) and by mouth aspirators were organized monthly to determine the entomological parameters of transmission and a passive follow-up of malaria cases in children aged 6 months to 10 years. was established during both periods.

Anopheles gambiae s.l. was the single vector species encountered during both periods and was composed of 3 species: *An.coluzzii*, *An.arabiensis* and *An.gambiae*. Among all these species, *An.coluzzii* was the majority species both in 2016 during IRS (96%, N = 93) and in 2018 after cessation of IRS (82%, N = 204).

The average density of *An gambiae s.l.* per house was 8.42 times (5.90 / 0.70) higher two years after discontinuation of IRS than during its implementation. The mean aggression rate was higher after stopping IRS (8.11 ± 7.28 bites / person / month) than during IRS (2.98 ± 2.82 bites / person / month). The average rate of anthropophilia was 72.95% during IRS and 76.42% after stopping IRS. The specimens collected and tested by ELISA, did not allow us to reveal *P. falciparum* infection during IRS. But two years after stopping IRS, the infection rate was 14.82. The mean EIR was 1.22 infectious bites per person per month after stopping IRS.

The average incidence rate observed after stopping IRS was 3.75 times (15/4) higher than that observed during IRS.

In conclusion, this study showed an upsurge in malaria transmission with an increase in all entomological indicators and incidence in the health district of Koulikoro two years after stopping IRS.

Keywords: Malaria, entomological parameters, incidence, IRS.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité, dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail ; je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure !!!

Fiche signalétique

Nom : Konate

Prénom : Moussa

Téléphone : 00223 78757534

Email : komoussa2611@gmail.com

Thème : Effet de l'arrêt de la pulvérisation intradomiciliaire sur les paramètres entomologiques et l'incidence du paludisme chez les enfants de 6 mois à 10 ans dans le district sanitaire de Koulikoro, Mali.

Année de soutenance : 2021

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Secteur d'intérêt : Santé publique, Paludisme, Lutte anti vectorielle.

Résumé : Au Mali la lutte antivectorielle est basée sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation intradomiciliaire (PID). Cette PID était mis en œuvre dans le district sanitaire de Koulikoro de 2008 à 2016. Mais depuis l'arrêt de la PID en 2016 dans ce district aucune étude entomologique et parasito-clinique n'a été menée pour examiner les tendances des indicateurs entomologiques et parasito-cliniques de la transmission. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail dont le but est de comparer les indicateurs de la transmission pendant et deux ans après l'arrêt de la PID dans le district Koulikoro.

L'étude a été réalisée dans les villages de Koula et de Karadié en 2016 pendant la PID et en 2018 après l'arrêt de la PID. Des captures au pyrèthre ou "Pyrethrum spray-catch" (PSC) et par aspirateurs à bouche ont été organisés mensuellement pour déterminer les paramètres entomologiques de la transmission et un suivi passif des cas de paludisme chez les enfants âgés de 6 mois à 10 ans a été établi.

Anopheles gambiae s.l. était la seule espèce vectrice rencontrée pendant les deux périodes et était composé de 3 espèces : *An.coluzzii*, *An.arabiensis* et *An.gambiae*. *An.coluzzii* était l'espèce majoritaire aussi bien en 2016 pendant la PID (96%, N= 93) qu'en 2018 après l'arrêt de la PID (82%, N= 204).

La densité moyenne d'*An gambiae s.l.* par case était 8,42 fois (5,90/0,70) plus élevée deux ans après l'arrêt de la PID que pendant sa mise en œuvre. Le taux d'agressivité moyen était plus élevé après l'arrêt de la PID (8,11±7,28 piqûres/personne/mois) que pendant la PID (2,98±2,82piqûres/personne/mois). Le taux d'anthropophilie moyen était de 72,95% pendant la PID et de 76,42% après l'arrêt de la PID. Les spécimens collectés et testé par ELISA, ne nous a pas permis de révéler une infection à *P. falciparum* pendant la PID. Mais deux ans après l'arrêt de la PID, le taux d'infection était de 14,82. Le TIE moyen était de 1,22 piqûres infectantes par personne par mois Après l'arrêt de la PID.

Le taux d'incidence moyen observé après l'arrêt de la PID était de 3,75 fois (15/4) plus élevé que celui observé pendant la PID.

En conclusion cette étude a montré une recrudescence de la transmission du paludisme avec une augmentation de tous les indicateurs entomologiques et de l'incidence dans le district sanitaire de Koulikoro deux ans après l'arrêt de la PID.



Pr Sékou F TRAORE



Pr Yaya KASSOGUE



Dr Drissa COULIBALY



Pr Seydou DOUMBIA



Dr Nafomon SOGOBA