

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université des Sciences, des Techniques
et des Technologies de Bamako

Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie

DER de Santé Publique et Spécialités

N° DERSP/FMOS/USTTB

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi



Mémoire

Master en Santé Publique

Option : EPIDEMIOLOGIE

Année Universitaire 2014 - 2015

**Etude entomologique de la transmission du paludisme
dans cinq sites sentinelles au Mali en 2010 et 2011**

Présenté et soutenu le

Par :

Dr Sidy DOUMBIA

Président :

Membre :

Directeur : Pr Seydou Doumbia MD, PHD

Sponsor : USAID/PMI, CRDI

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A la mémoire de mon père :

Feu **Seydou DOUMBIA** en signe de reconnaissance de l'immense bien que vous avez fait pour moi concernant mon éducation qui aboutit aujourd'hui à la réalisation de cette étude. Que Dieu le tout puissant t'accorde son paradis éternel (amen).

A ma mère :

Naffissatou SINGARE pour m'avoir donnée la vie et la joie de vivre. Ta bonne éducation, tes conseils et tes bénédictions n'ont jamais fait défaut, Que Dieu le tout puissant soit à vos côtés et vous accorde une meilleure santé (amen).

Remerciements :

A notre directeur de mémoire, **Pr Seydou DOUMBIA** pour m'avoir permis de traiter ce sujet qui me tenait à cœur et pour votre attachement sans pareil à notre formation. Votre soutien fut d'une importance capitale dans la réalisation de ce mémoire.

A **Dr Mamadou B. COULIBALY**, pour m'avoir offert cette année d'élévation intellectuelle et m'avoir guidé, au travers de mes doutes, qu'ils aient été d'ordre académique plus personnel, tout en me laissant l'autonomie nécessaire pour m'épanouir dans ce travail et me confronter à moi-même.

Aux corps enseignant et administratif du DERSP/FMOS, pour la qualité des enseignements et la circulation de l'information.

A **Dr Issaka SAGARA** pour son aide, sa disponibilité et ses encouragements sans cesse.

Mes remerciements sincères vont également à tout le personnel du MRTC particulièrement à l'unité « Genomics & Proteomics » des vecteurs pour leur accueil, leur bonne humeur quotidienne sans faille et leur capacité de travail en équipe exemplaire.

A tous les apprenants de la troisième promotion de master en santé publique du DERSP pour leur collaboration.

Grand merci au **Centre de Recherche pour le Développement International (CRDI)** pour avoir financé notre formation.

A ma chère épouse **Dr Mariam COULIBALY** et mes deux filles Amina et Batrou pour leur patience et leur soutien sans cesse.

Toute œuvre qui résulte d'un effort humain est explicitement ou implicitement toujours le fruit d'une vaste collaboration. Ainsi, que tous ceux qui de près ou de loin ont pris une part active dans la réalisation de ce mémoire puissent trouver dans ces lignes l'expression de notre profonde gratitude.

Table des matières

Une étude descriptive des paramètres entomologiques était effectuée. Une comparaison des moyennes de moustiques collectés à l'intérieur et à l'extérieur était effectuée.....	8
Le test de Kruskal-Wallis et le T-test d'indépendant étaient utilisés pour la comparaison des moyennes.....	8
1. Introduction	1
1.1 Questions de recherche :.....	2
1.2 Hypothèse de recherche :.....	2
2. OBJECTIFS.....	3
2.1. Objectif général :.....	3
2.2. Objectifs spécifiques :	3
3. Méthodologie :	4
3.1. Type et période d'étude :.....	4
3.2. Sites d'étude :	4
3.2.1. Caractéristiques des sites d'études :	4
4. Sources des données.....	7
4.1. Les données entomologiques.....	7
4.2 Identification moléculaire des moustiques	8
4.3 Test d'insecticides :	9
5. Aspects statistiques :	10
5.1 Les différentes variables étaient :	10
5.2 Plan de traitement et d'analyse des données :	10
Une étude descriptive des paramètres entomologiques était effectuée. Une comparaison des moyennes de moustiques collectés à l'intérieur et à l'extérieur était effectuée.....	10
Le test de Kruskal-Wallis et le T-test indépendant ont été utilisés pour la comparaison des moyennes.....	10
6. Résultats :	11
6.1 Les différentes espèces de moustiques capturés par PSC :	11
6.2 Le comportement de piqûre (intérieur vs extérieur) d' <i>An. gambiae sl</i> par capture de nuit :	11
6.3 Variation des paramètres entomologiques dans les cinq sites en 2010 et 2011	12
9. Conclusion :.....	21
10. Bibliographie :.....	23

Liste des tableaux :

Tableau I : Les différentes sites d'étude et leur zones éco-climatiques.	4
Tableau II : La fréquence des formes moléculaires d' <i>Anophèles gambiae sl</i> et d' <i>An. arabiensis</i> dans les sites sentinelles en 2010 et 2011.	11
Tableau III : Comparaison de la moyenne de moustique capturé à l'intérieur vs extérieur par capture de nuit dans les cinq sites sentinelles en 2010 et 2011	12
Tableau IV : Comparaison de la moyenne annuelle des paramètres entomologiques selon les sites....	16

Liste des figures :

Figure 1 : Carte des sites sentinelles Mali	6
Figure 2 La fréquence des différentes espèces (<i>An. gambiae sl et Culex sp</i>) de moustique collectés par PSC dans les cinq sites sentinelles en 2010 et 2011.....	11
Figure 3 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Binko en 2010 et 2011.	12
Figure 4 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Boudofo en 2010 et 2011.....	13
Figure 5 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Gomitogo en 2010 et 2011.	14
Figure 6 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Taliko en 2010 et 2011.	14
Figure 7 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Woroni en 2010 et 2011.	15
Figure 8 : Taux de Mortalité à 24 heures des moustiques (d' <i>An. gambiae s.l</i>) des cinq sites sentinelles exposé aux différents insecticides en 2010.	16

Liste des abréviations :

An : *Anophèles*

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

CIV : Commune IV

TIE : Taux d'Inoculation Entomologique

Sl: Senu Lato

MRTC: Malaria Research & Training Center

PSC: Pyrethrinoid Spray-catch

IAS: Indice d'Antigène Sporozoitique

ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

HLC : Human Landing Catch

DESAM : Développement Sanitaire du Mali

CRDI : Centre de Recherche pour le Développement International

PCR : polymerase chain reaction

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Ma : Agressivité

TI : Taux d'infection

D : Densité

Résumé :

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde. Il est dû à un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique femelle du genre Anophèle.

L'une des principales composantes du plan stratégique 2013-2017 (PNLP/Ministère de la santé) est le renforcement d'un système de surveillance sentinelle (épidémiologique, entomologique) pour les zones à transmission instable du paludisme.

La présente étude rétrospective se propose de faire l'état des lieux entomologique de la transmission entomologique du paludisme dans cinq sites sentinelles. Il s'agit d'une analyse rétrospective des données d'une étude transversale qui s'est déroulée en 2010 (de juin à octobre) et 2011 (de juin à septembre).

Elle était basée sur la collecte des moustiques adultes par pulvérisation de pyrèthre (spray catch) dans les chambres à coucher et la capture de nuit sur appât humain.

Une étude descriptive des paramètres entomologiques était effectuée. Une comparaison des moyennes de moustiques collectés à l'intérieur et à l'extérieur était effectuée.

Le test de Kruskal-Wallis et le T-test d'indépendant étaient utilisés pour la comparaison des moyennes.

Il n'y avait pas de différence significative entre le nombre moyen de moustique (*An. gambiae s/l*) qui pique à l'intérieur et à l'extérieur sur l'ensemble des sites.

Globalement la densité était plus forte à Gomitogo situé dans la zone sahélienne et plus faible à Taliko dans la zone péri-urbaine en 2010 et 2011. Au cours des passages, l'agressivité était la plus élevée à Gomitogo et la plus basse à Taliko tant en 2010 qu'en 2011.

Les paramètres entomologiques de base variaient différemment d'une année à l'autre et d'un site à l'autre. Il a été constaté sur certains de nos sites que les pics de la densité et de l'agressivité précédaient ceux du TIE d'à peu près un mois.

Mots clés : Entomologie, Transmission, Paludisme, Sites Sentinelles, Mali, 2010, 2011

Summary:

Malaria is the most widespread parasitic disease in the world. It is caused by a protozoan of the genus *Plasmodium* transmitted to humans by the bite of a female mosquito of the *Anopheles* genus.

One of the main components of the strategic plan 2013-2017 (NMCP / Ministry of Health) is the strengthening of a sentinel surveillance system (epidemiological, entomological) for areas with unstable malaria transmission.

The present study proposes to study the insect malaria transmission in five sentinel sites located in different eco-climatic zones of Mali in 2010 and 2011: Binko (Sélingué) Boudofo (Kita), Gomitogo (Djenne) Taliko (CIV Bamako) and Wororni (Kadiolo).

This is a retrospective analysis of data from a cross-sectional study was conducted in 2010 (June-October) and 2011 (June-September).

It was based on the collection of adult mosquitoes by pyrethrum spray (spray catch) in the bedrooms and the capture of night on human bait.

A descriptive study was conducted entomological parameters. A comparison of the average of mosquitoes collected inside and outside was performed.

The Kruskal-Wallis test and independent t-test were used for comparison of means.

There was no significant difference between the average number of mosquitoes (*An. Gambiae* sl) that stings inside and outside.

Overall density was higher in Gomitogo located in the Sahelian zone and lowest in Taliko in the peri-urban area in 2010 and 2011. In our passages, aggression was highest in Gamitogo and lowest in Taliko tan in 2010 than in 2011.

The basic entomological parameters differently varied from one year to another and from one site to another. It was found on some of our sites that peaks in the density and aggression of those TIE preceded by about a month.

Keywords: Entomology, Transmission, Malaria Sentinel Sites, Mali, 2010, 2011

1. Introduction

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde. Il est dû à un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique femelle du genre Anophèle. Au niveau mondial, la population susceptible d'être infectée par le parasite s'élève à 3,3 milliards dans 97 pays et territoires, et le risque est élevé (plus d'une chance sur 1 000 de contracter la maladie au cours d'une année) pour 1,2 milliard de personnes(1).

L'Afrique subsaharienne qui ne compte que 8 % de la population mondiale fournit 85 à 90 % des cas de paludisme (200 à 280 millions de cas dont 90 % dus à *plasmodium falciparum*).

Les enfants de moins de cinq ans, payent le plus lourd tribut à cette maladie(2).

Au Mali, le paludisme constitue la première cause de morbidité et de mortalité chez les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans et représente 40% du total des motifs de consultations avec 2.584317 de cas suspects(3).

Les principaux vecteurs du paludisme rencontrés au Mali sont les membres du complexe *Anopheles gambiae*, abondant surtout en saison pluvieuse, et *Anopheles funestus*, plus fréquent en saison sèche fraîche (4). Ce modèle de répartition temporelle des vecteurs favorise la transmission continue du paludisme pendant toute l'année. Ainsi on parle de transmission par relai(5) .

Sur environ 3 500 espèces de moustiques décrites à travers le monde, seulement 30 à 40 espèces - appartenant toutes au genre *Anophele* - transmettent le parasite responsable du paludisme. En Afrique, on rencontre principalement 3 espèces de moustiques anophèles transmettant le paludisme : *An. gambiae* ss, *An. arabiensis* et *An. funestus*. L'anophélisme sous certaines conditions, demeure l'un des éléments essentiels de l'apparition, de l'entretien et de l'extension du paludisme dans une aire géographique donnée (5).

L'étude entomologique, par des observations topiques normalisées, fournit un maximum de renseignements sur le vecteur qui, permet de contrôler constamment ses réactions aux interventions de lutte programmées, et procure rapidement des données d'analyse concernant les foyers résiduels et les zones à risque, où une éventuelle reprise de la transmission est à craindre.

L'une des principales composantes du plan stratégique 2013-2017(PNLP/Ministère de la santé) est le renforcement d'un système de surveillance sentinelle (épidémiologique,

entomologique) pour les zones à transmission instable du paludisme. La survenue et la gravité des épidémies peuvent, dans certains cas, être prévues grâce au suivi et l'analyse des facteurs socio-économiques et les modifications de l'environnement(6). La surveillance est un élément fondamental pour détecter l'épidémie et suivre au quotidien l'évolution du paludisme. Les variations des conditions climatiques, comme la température, le régime des précipitations et l'humidité, ont un effet important sur la durée de vie du moustique, sur le développement des parasites du paludisme dans le moustique et, ensuite, sur la transmission de la maladie(7).

La présente étude se propose d'étudier la transmission entomologique du paludisme dans cinq sites sentinelles situés dans différentes zones éco-climatiques du Mali en 2010 et 2011 : Binko (sélingue), Boudofo(Kita), Gomitogo(Djenné), Taliko(Bamako CIV) et Wororni(Kadiolo).

1.1 Questions de recherche :

- Le comportement de piqûre (intérieur vs extérieur) d'*An. gambiae sl* diffère-t-il selon le site ?
- Quelle est l'évolution des paramètres entomologiques de base (densité, agressivité, taux d'inoculation entomologique(TIE) et le taux d'infection(TI)) pendant la période de transmission dans les cinq sites sentinelles en 2010 et 2011 ?

1.2 Hypothèse de recherche :

Nous formulons l'hypothèse que l'évolution des paramètres entomologiques de base (densité, agressivité, TIE et TI) et le comportement de piqûre (intérieur vs extérieur) d'*An. gambiae sl* diffèrent selon les zones éco-climatiques au Mali.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général :

Evaluer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme dans cinq sites sentinelles au Mali en 2010 et 2011.

2.2. Objectifs spécifiques :

- Déterminer la composition de la faune culicidienne dans les cinq sites sentinelles,
- Déterminer le comportement de piqûre (intérieur vs extérieur) d'*An. gambiae sl* dans les cinq sites sentinelles,
- Déterminer les paramètres entomologiques de base de la transmission du paludisme (densité des adultes, agressivité, et le taux d'inoculation entomologique) ;
- Déterminer le niveau de susceptibilité d'*An. gambiae s.l.* aux insecticides en utilisant le kit de l'OMS.

3. Méthodologie :

3.1. Type et période d'étude :

Il s'agit d'une analyse rétrospective des données d'une étude transversale qui s'est déroulée en 2010 (de juin à octobre) et 2011 (de juin à septembre).

3.2. Sites d'étude :

L'étude s'est déroulée dans cinq sites qui sont cités dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les différents sites d'étude et leur zones éco-climatiques.

Districts	Sites	Zones éco-climatiques
Kadiolo	Woroni	Soudanienne
Djénné	Gomitogo	Sahélienne
Kita	Boudofo	Soudanienne
Selingué	Binko	Zone inondée
Bamako/CIV	Taliko	Zone péri-urbaine

3.2.1. Caractéristiques des sites d'études :

Woroni : la population était de 10 926 habitants en 2010 et 11 319 habitants en 2011. Le nombre de cas de paludisme enregistré dans le centre de santé de woroni était de 1 508 en 2010 (8) contre 1 884 en (9). Woroni est situé dans la zone soudanienne avec un climat de type subhumide. La pluviométrie, répartie sur 5 mois, varie de 600 mm/an au Nord 1 200 mm/an au Sud. Les fleuves, les marigots et les mares fournissent de grandes quantités d'eau de surface tout au long de l'année. La zone soudanienne est le domaine de la savane où les formations herbeuses comportent une strate herbacée continue et des plantes ligneuses. Le développement du tapis herbacé s'accroît avec le gradient pluviométrique nord/sud et parallèlement les arbres sont de plus en plus grands (10).

Boudofo : la population était de 6 319 habitants en 2010 et 6 457habitants en 2011. Le nombre de cas de paludisme enregistré dans le centre de santé de Boudofo était de 619 en 2010 (8) contre 584 en (9). Boudofo est situé dans zone soudanienne.

Gomitogo : La population de Gomitogo était de 6 592 habitants en 2010 et 6 697 en 2011. Le nombre de cas de paludisme enregistré dans le centre de santé de Gomitogo était de 2 224 en

2010 (8) contre 1 294 en 2011 (9). Gomitogo est situé dans la zone sahélienne avec un climat de type aride. Le Sahel correspond à des écosystèmes arides et semi-arides, avec une pluviométrie moyenne annuelle variant entre 150 et 600 mm. Les conditions écologiques de la zone ont favorisé le développement de steppes: steppe herbeuse (arbres et arbustes pratiquement absents) et steppe arborée et/ou arbustive (arbres et arbustes présents). Les arbres sont principalement des épineux du genre *Acacia*, accompagnés par endroits des espèces des genres *Combretum* et *Boscia*, etc (10).

Binko : La population de Binko était de 17 692 habitants en 2010 et 18 329 en 2011. Le nombre de cas de paludisme enregistré dans le centre de santé de Binko était de 1 763 en 2010 (8) contre 1 442 en 2011 (9). Situé dans une zone de riziculture irriguée par un barrage hydroélectrique depuis 1982, qui permet une culture biannuelle du riz (saison pluvieuse et sèche), l'agriculture et la pêche sont les principales activités des populations. La transmission du paludisme est fortement influencée par le régime d'irrigation et la forte pluviométrie. Cette transmission présente deux pics : Juin-Octobre correspondant à la saison des pluies et Mars-Avril pendant la saison sèche, à cause de la culture du riz (11).

Taliko : La population de Taliko était de 32 262 habitants en 2010 et 33 165 en 2011. Le nombre de cas de paludisme enregistré dans le centre de santé de Taliko était de 2 447 en 2010 (8) contre 1 931 en 2011(9). Situé dans la zone périurbaine de Bamako, caractérisée par le manque d'hygiène et assainissement adaptés à la forte anthropisation, ce sont des milieux de pollution environnementale au sud, peu propices à l'impaludation. Le paludisme y est instable. L'IP est < 10% voir paludisme hypo endémique. Les adultes citadins courent aussi le risque de paludisme grave et compliqué (12).

« Ce travail a été réalisé grâce à l'aide généreuse du Peuple américain (USAID). Le laboratoire de génomique des vecteurs du département d'entomologie est responsable du contenu qui ne reflète pas nécessairement les points de vue de l'USAID ou du gouvernement des Etats Unis. Financement: CA 688-A-00-10-00077-00 »

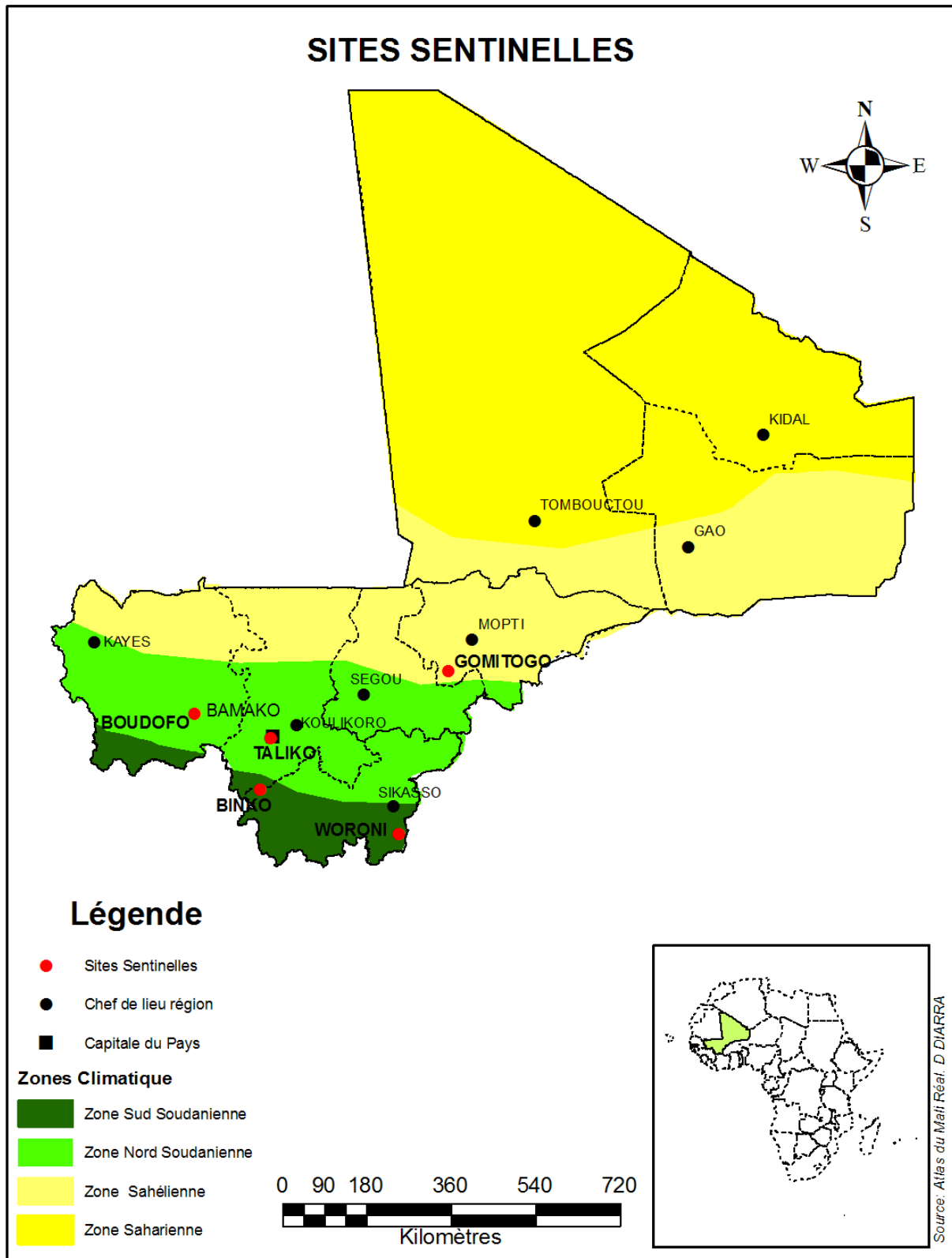


Figure 1 : Carte des sites sentinelles Mali

4. Sources des données

4.1. Les données entomologiques

Les données entomologiques provenaient du Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme (MRTC\Entomo). L'évaluation de la transmission entomologique du paludisme a été réalisée dans cinq sites.

a. Echantillonnage :

Il était basé sur la collecte des moustiques adultes par pulvérisation de pyrèthre (spray catch) dans les chambres à coucher et la capture de nuit sur appât humain.

Au préalable, on a choisi de façon aléatoire 25 chambres à coucher par village. Les collectes ont été effectuées à chaque passage dans ces chambres. Au total il y a eu cinq passages en 2010 (juin, juillet, Août, septembre, octobre) sur nos sites sauf à Taliko où il n'y a pas eu de passage en juin. En 2011, il y'a eu quatre passages (juin, juillet, Août, septembre).

b. collecte et traitement des échantillons :

- **La technique de capture de jour par pulvérisation de pyrèthre** (en anglais : *Pyrethrum Spray-catch (PSC)*) a été utilisée.

Elle consistait à étaler des draps blancs sur le plancher de la chambre, à fermer les portes et fenêtres et tout autre aérât et à pulvériser avec de l'insecticide à base de pyrèthre.

Il faut noter qu'avant d'entreprendre la pulvérisation, tous les objets et aliments pouvant être contaminés par l'insecticide étaient enlevés de la pièce ou recouverts.

Environ 5 à 10 minutes après la pulvérisation, les draps étaient repris en prenant soin de rassembler tous les moustiques morts ou moribonds tombés sur les draps.

Seuls *An. gambiae s.l* étaient collectés.

Pour chaque case prospectée, le nom du propriétaire, le type de case (toit en tôle, en paille ou en terrasse), le nombre de dormeurs et le nombre de moustiques collectés (par état de réplétion) étaient portés sur une fiche appropriée (Cf annexe I).

Les moustiques étaient ensuite conservés dans les tubes Eppendorf contenant de l'éthanol à 80%.

Les captures avaient lieu les après-midi (entre quinze heures et dix-huit heures).

Les moustiques collectés étaient disséqués, la portion tête-thorax des moustiques était transférée dans un tube Eppendorf vide de 1,5 ml et a servie à la détermination de l'indice

d'antigène sporozoïtique (IAS) par la technique ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

➤ **Capture sur appât humain**(en anglais : Human Landing Catch(HLC)) :

Les séances de capture étaient mensuelles avec deux séances et deux postes par village.

Elles ont été effectuées entre 18H-06H du matin, à l'intérieur et l'extérieur des chambres par des hommes adultes volontaires.

Elles ont consistées à l'aspiration de moustiques à l'aide d'un aspirateur à bouche de type Coluzzi. Des volontaires adultes ayant séjournés dans la zone de prémunition palustre étaient choisis. Ils étaient formés pour la circonstance.

c. Paramètres entomologiques mesurés

➤ **Densité anophelienne**

La densité anophelienne s'obtient en faisant le rapport des espèces vectrices par le nombre total de chambres prospectés.

➤ **Agressivité (ma)**

Ce paramètre correspond au nombre moyen de piqûres d'une espèce donnée, reçues par homme durant une période donnée (nuit, mois,...).

C'est le nombre total d'anophèles femelles d'une espèce donnée gorgée et semi-gravides capturées dans une chambre, divisé par le nombre de personnes ayant dormi dans la chambre la veille.

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

Il représente le nombre de piqûres infectantes reçues par Homme et par unité de temps (nuit, mois, ou année). $h = ma.IAS$ (formule de Mac-Donald); où **ma** est l'agressivité et **IAS** l'indice antigène sporozoïtique. Il est estimé espèce par espèce. La transmission globale est égale à la somme des (h) des différentes espèces vectrices.

4.2 Identification moléculaire des moustiques

Les moustiques identifiés sont issus des captures par spray-catch. L'identification a concerné seulement le complexe *An. gambiae s.l.* L'extraction d'ADN a été faite selon le protocole de

Collins et al. 1987. L'identification des espèces et des formes moléculaires a été faite par la PCR (polymerase chain reaction) selon la méthode de Fanello et al. 2002.

4.3 Test d'insecticides :

Le test d'insecticide a été effectué sur les moustiques de Binko, Boudofo, Gomitogo et Woroni. Il n'y avait pas un nombre suffisant de moustique pour faire le test à Taliko. Seulement deux insecticides ont été testés à Boudofo.

➤ **Matériels**

- Tube en plastique (125mm/44mm)
- Ecrans de maille
- Plaques coulissantes
- Feuilles de papier propre (12cm/15cm)
- Pincettes à ressort (bracelets)
- Eprouvettes d'aspiration en verre
- Rouleau de bande plastique autoadhésive.

➤ **Moustiques utilisés pour le test d'insecticide**

Les tests sont réalisés avec les membres du complexe *Anopheles gambiae s.l* principales espèces vectrices au Mali. Les moustiques utilisés étaient des femelles à jeun de la première génération(F1) issues des femelles sauvages capturées sur le terrain.

Environ 125 moustiques femelles âgés de 2 à 5 jours ont été prélevés de la cage avec un aspirateur de transfert et transférés dans les tubes d'attente (25 femelles par tube). Toute autre méthode de prélèvement et de transfert des moustiques n'entraînant pas une mortalité excessive des spécimens peut être utilisée.

➤ **Insecticides utilisés pour le test :**

Les cinq insecticides utilisés pour le test ont été : la deltaméthrine (0,05%), la lambda-cyhalothrine (0,05%) le bendiocarbe (0,1%) la perméthrine (0,75%) et le DDT (4%).

➤ **Les critères d'interprétation utilisés sont les suivants (OMS, 2013) :**

- résistant si mortalité < **90%**
- résistance probable à confirmer (ou baisse de Sensibilité) si mortalité < **98%**

- sensible si mortalité comprise entre **98%-100%**.

5. Aspects statistiques :

5.1 Les différentes variables étaient :

La densité, agressivité, taux inoculation entomologique et le taux d'infection.

5.2 Plan de traitement et d'analyse des données :

La base de donnée créée pour la circonstance a été nettoyée après sélection des variables.

Les données ont été saisies dans une base de données Excel et analysées à l'aide du logiciel SPSS 16.0 et Epi Info.7.

Une étude descriptive des paramètres entomologiques était effectuée. Une comparaison des moyennes de moustiques collectés à l'intérieur et à l'extérieur était effectuée.

Le test de Kruskal-Wallis et le T-test indépendant ont été utilisés pour la comparaison des moyennes.

6. Résultats :

6.1 Les différentes espèces de moustiques capturés par PSC :

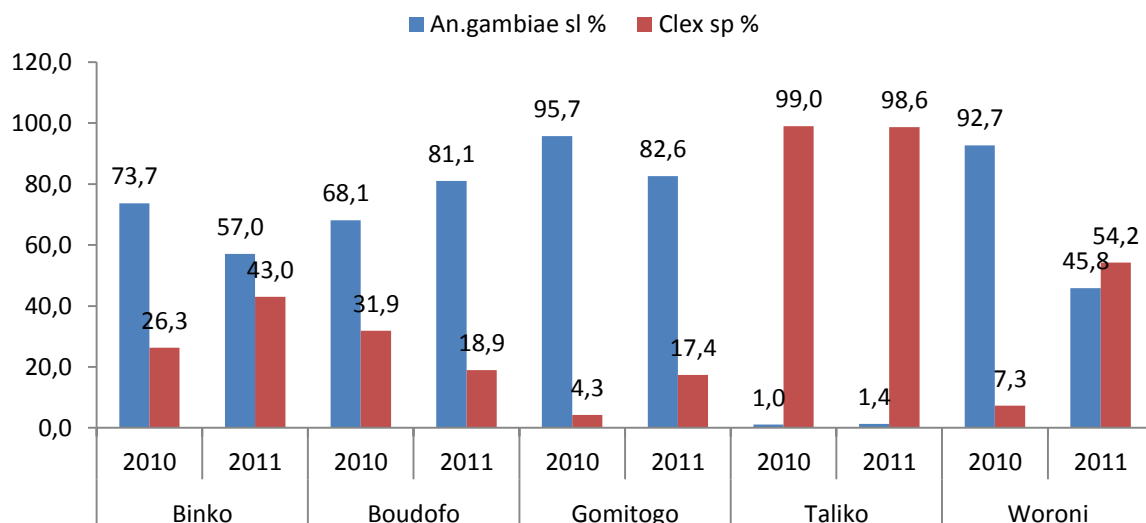


Figure 2 La fréquence des différentes espèces (*An. gambiae sl* et *Culex sp*) de moustique collectés par PSC dans les cinq sites sentinelles en 2010 et 2011.

En 2010, l'espèce *An. gambiae sl* prédominait dans tous nos sites sauf à Taliko où c'est l'espèce *culex sp* qui prédominait. Cette même tendance était observée 2011 sur tous les sites sauf à Woroni où l'espèce *Culex sp* a pris le dessus sur *An. gambiae sl*.

6.2 Structure moléculaire de la population vectrice du paludisme dans les sites sentinelles :

Tableau II : La fréquence des formes moléculaires d'*Anophèles gambiae sl* et d'*An. arabiensis* dans les sites sentinelles en 2010 et 2011.

Sites	An. Coluzzii %	An. gambiae S %	An. arabiensis %	Total
Binko	71,6	27,2	1,2	951
Bodofo	38	55,8	6,2	276
Gomitogo	96,3	2,5	1,2	995
Taliko	65,2	30,4	4,4	23
Woroni	64,7	33,8	1,5	678

La forme moléculaire *An. Coluzzii* prédominait sur l'ensemble des sites sentinelles sauf à Boudofo où la forme moléculaire *S* prédominait.

6.2 Le comportement de piqûre (intérieur vs extérieur) d'*An. gambiae sl* par capture de nuit :

Tableau II : Comparaison de la moyenne de moustique capturé à l'intérieur vs extérieur par capture de nuit dans les cinq sites sentinelles en 2010 et 2011

Sites	Année	Moyenne.int ±Ecart-typt	Moyenne.ext ±Ecart-typt	P
Binko	2010	371 ±204,6	314,7 ±204,5	0,999
	2011	295,2±452,1	323,5 ±543,6	0,77
Boudofo	2010	64,5 ±70,1	30 ±34,2	0,266
	2011	38,2 ±35,1	27 ±29,4	0,764
Gomitogo	2010	328,7 ±321,5	159 ±159,1	0,278
	2011	161,5 ±147,2	84,7 ±72,8	0,271
Taliko	2010	0 ±0,0	0 ±0,0	?
	2011	1 ±1,4	0,7 ±1,5	0,999
Woroni	2010	108,5 ±107,8	97,7 ±59,4	0,354
	2011	40,7 ±40,3	26,2 ±29,2	0,61

Il n'y avait pas de différence significative entre le nombre moyen de moustique capturé à l'intérieur et à l'extérieur sur nos cinq sites tant en 2010 qu'en 2011.

6.3 Variation des paramètres entomologiques dans les cinq sites en 2010 et 2011

a. Variation des paramètres entomologiques à Binko en 2010 et 2011

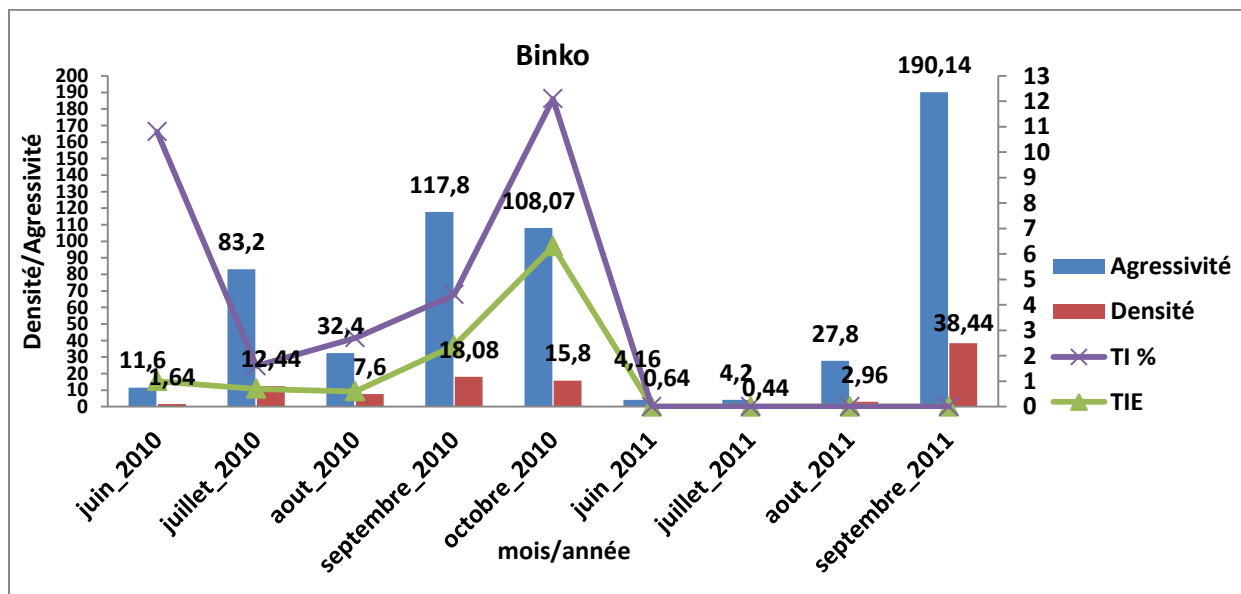


Figure 3 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Binko en 2010 et 2011.

En 2010, la densité de moustique et l'agressivité étaient plus fortes au mois de septembre (respectivement 16,08 moustiques/chambre et 117,8 piqûre/personne/mois) et plus faibles en juin. Au cours de la même année 2010, le pic du TIE et du Taux d'infection ont été observés en octobre.

En 2011, la densité et l'agressivité étaient aussi plus fortes en septembre (respectivement 38,44 moustiques/chambre et 190,14 piqûre/personne/mois) et faible en juin. Le TIE et le TI ont très peu variés en 2011 à Binko.

b. Variation des paramètres entomologiques à Boudofo en 2010 et 2011

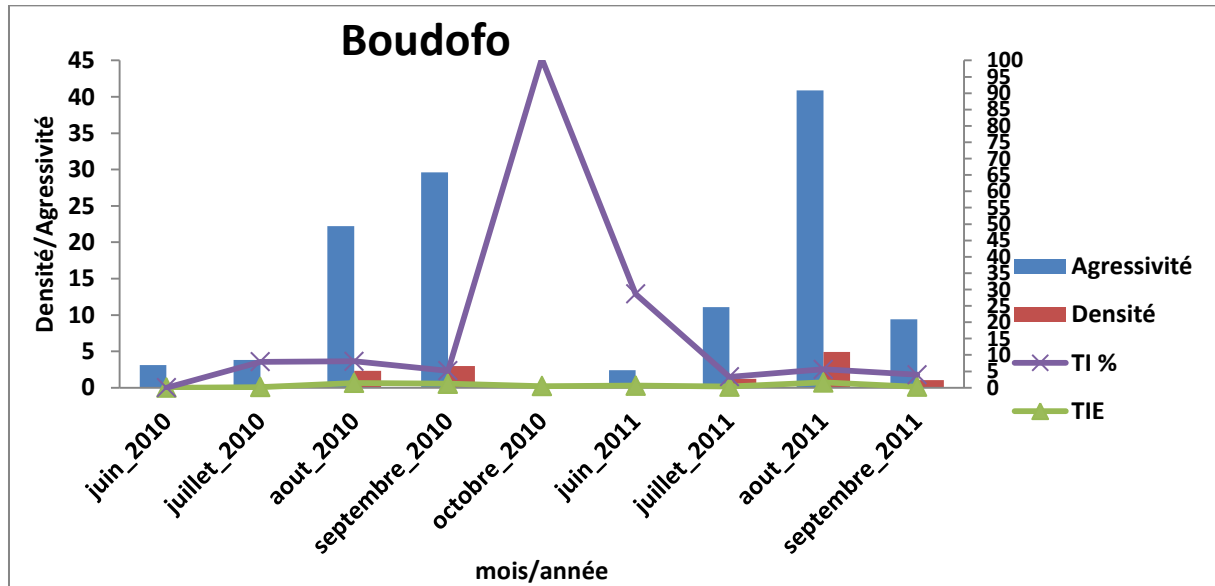


Figure 4 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Boudofo en 2010 et 2011.

A Boudofo en 2010, la densité et l'agressivité ont été plus fortes en septembre (respectivement 8 moustiques/chambre et 29,6 piqûre/personne/mois) et faibles en juin. Le pic du TIE et du TI ont été respectivement observés en août et octobre.

En 2011, la densité et l'agressivité ont été plus fortes en août (respectivement 4,9 moustiques/chambre et 40,9 piqûre/personne/mois) et plus faibles en juin. Le pic du TIE et du TI ont été respectivement observés en août et juin.

c. Variation des paramètres entomologiques à Gomitogo en 2010 et 2011

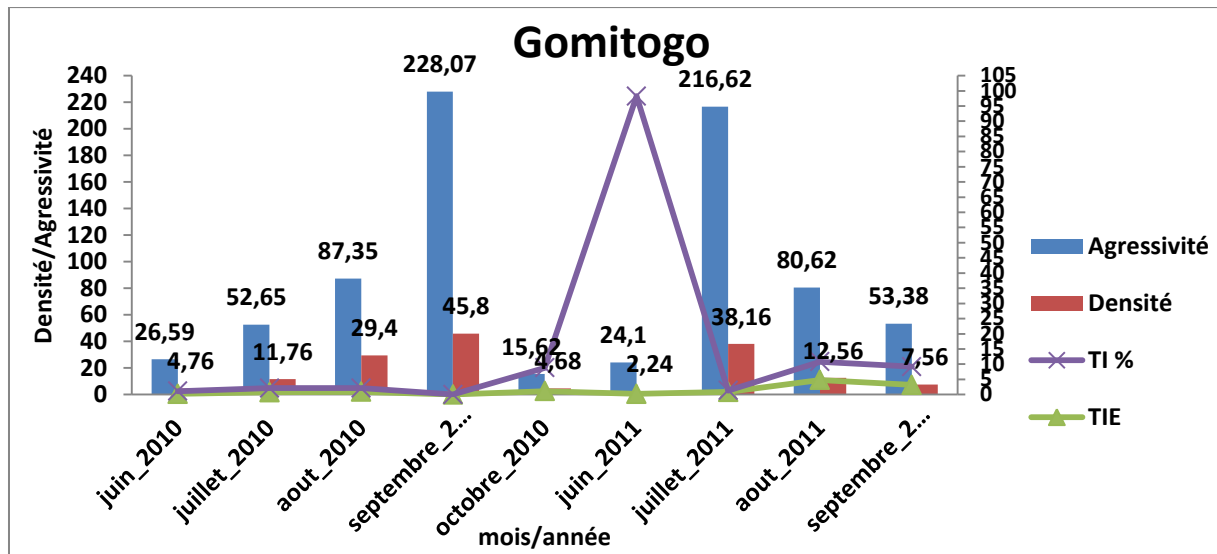


Figure 5 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Gomitogo en 2010 et 2011.

En 2010 à Gomitogo, la densité et l'agressivité ont été plus fortes en septembre (respectivement 45,8 moustiques/chambre et 228,07 piqûre/personne/mois) et faibles en octobre. Le pic du TI a été observé en octobre et TIE a très peu varié en 2010 à Gomitogo.

En 2011, la plus forte densité et l'agressivité ont été enregistrées au mois de juillet (respectivement 38,16 moustiques/chambre et 216,62 piqûre/personne/mois) et faibles en juin. Le pic du TIE a été observé en août. Il a été observé deux pics du TI respectivement en juin et août.

d. Variation des paramètres entomologiques à Taliko en 2010 et 2011

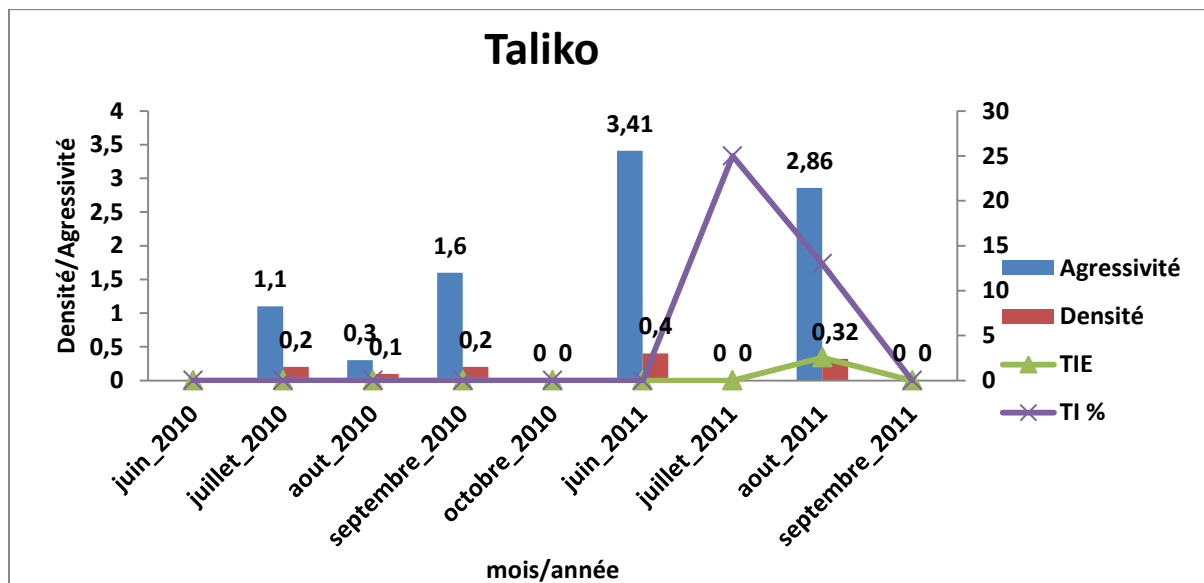


Figure 6 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Taliko en 2010 et 2011.

A Taliko en 2010, la densité était plus élevée en juillet (0,2 moustiques/chambre) et septembre (0,2 moustiques/chambre) et presque nul en octobre. L'agressivité était plus forte en septembre (1,6 piqûre/personne/mois) et nul en octobre. Le TIE et le TI étaient nul en 2010 à Taliko.

En 2011, la densité et l'agressivité étaient fortes en juin (respectivement 0,4 moustiques/chambre et 3,41 piqûre/personne/mois) et nul en juillet et septembre. Le pic du TIE a été observé en août et celui du TI en juillet en 2011 à Taliko.

e. Variation des paramètres entomologiques à Woroni en 2010 et 2011

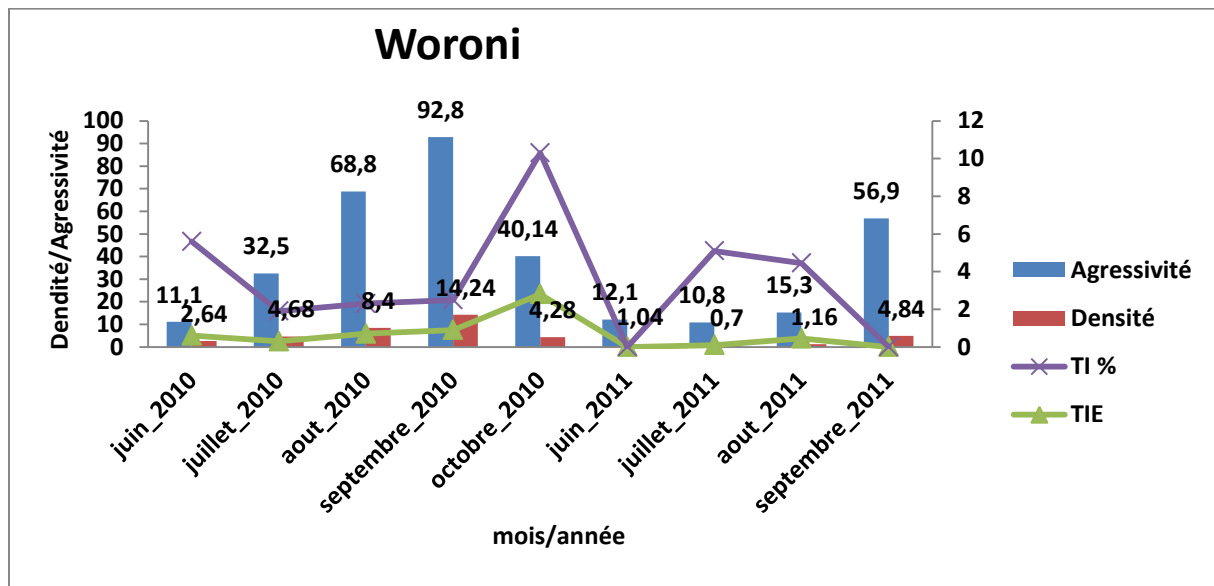


Figure 7 : Variation mensuelle de la densité, de l'agressivité, du taux d'infection et du TIE à Woroni en 2010 et 2011.

En 2010, la densité et l'agressivité ont été plus fortes en septembre (respectivement 14,24 moustiques/chambre et 92,8 piqûre/personne/mois) et plus faible en juin. Il a été observé deux pics du TIE et du TI respectivement en juin et octobre.

A Woroni en 2011, la densité et l'agressivité étaient forte aussi en septembre (respectivement 4,84 moustique/chambre et 56,9 piqûre/personne/mois) et plus faible en juillet. Le pic du TIE et celui du TI étaient observés respectivement en août et juillet.

f. Comparaison de la moyenne annuelle des paramètres entomologiques selon les sites
Tableau III : Comparaison de la moyenne annuelle des paramètres entomologiques selon les sites

Année	Paramètres	Binko	Boudofo	Gomitogo	Taliko	Woroni	P
2010	Densité	11,11	1,24	19,28	0,12	6,84	0,002
	Agressivité	70,61	11,84	82,02	0,75	49,06	0,006
	TIE	2,20	0,67	0,58	0,00	1,06	0,082
2011	Densité	10,62	1,83	15,13	0,18	1,93	0,025
	Agressivité	56,57	15,95	93,68	1,56	23,77	0,020
	TIE	0,00	0,72	2,28	0,08	0,13	0,012

La moyenne la plus élevée de la densité et de l'agressivité était enregistrée à Gomitogo en 2010 et 2011, cette différence était significative. La moyenne la plus forte du TIE était enregistrée à Binko en 2010 et à Gomitogo en 2011. En 2010 il n'y avait pas une différence significative entre la moyenne du TIE selon le site.

6.4 Test de susceptibilité du complexe d'*An. gambiae* :

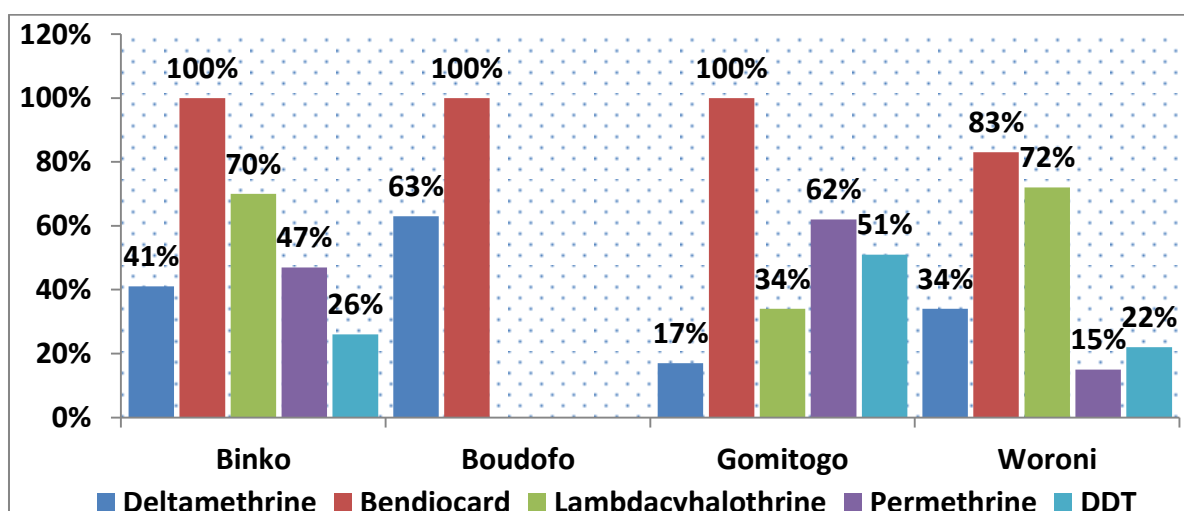


Figure 8 : Taux de Mortalité à 24 heures des moustiques (d'*An. gambiae* s.l) des sites sentinelles exposé aux différents insecticides en 2010.

« Ce travail a été réalisé grâce à l'aide généreuse du Peuple américain (USAID). Le laboratoire de génomique des vecteurs du département d'entomologie est responsable du contenu qui ne reflète pas nécessairement les points de vue de l'USAID ou du gouvernement des Etats Unis. Financement: CA 688-A-00-10-00077-00 »

Le taux de mortalité après 24heures était 100% pour le Bendiocarbe à Binko, Boudofo et Gomitogo. Ce taux était de 83% à Woroni. Les moustiques étaient résistants aux autres insecticides testés.

7. Commentaires et Discussions :

Cette étude dont le but était d'étudier la transmission du paludisme et le comportement de piqûre *An. gambiae sl* dans cinq sites sentinelles situés dans différentes zones éco-climatiques au Mali en 2010 et 2011 a concerné le village de Binko (zone d'inondation), Boudofo (zone Nord soudanienne), Gomitogo (zone sahélienne), Taliko (zone péri-urbaine), et Woroni (zone sud-soudanienne).

Les résultats ont montré une fréquence plus élevée de l'espèce *An. gambiae sl* sur l'ensemble des sites sauf à Taliko (2010 et 2011) et à Woroni (2011) où l'espèce *Culex sp* prédominait. La prédominance de l'espèce *Culex sp* à Taliko situé dans la zone périurbaine pourrait être expliquée par la présence d'eau souillée (gîte de prédilection pour cette espèce).

La forme moléculaire *An. Coluzzii* suivit de la forme S étaient majoritaires à Binko, Gomitogo, Taliko et Woroni. Par contre la forme moléculaire S prédominait à Boudofo.

Il n'y avait pas de différence significative entre le nombre moyen de moustique (*An. gambiae sl*) qui pique à l'intérieur et à l'extérieur. Ce même résultat était trouvé par Camara, (2010). Ce qui amènerait à penser à une transmission active en dehors des chambres à coucher. Ceci contraste avec la croyance générale selon laquelle la majorité des piqûres se passe à l'intérieur des chambres. Ce constat pourrait être la résultante des différentes méthodes de lutte anti-vectorielle. Il serait donc important de multiplier de telles études afin de disposer d'avantage d'évidences. Ces évidences pourraient être utilisées pour faire un plaidoyer auprès des preneurs de décision, des bailleurs de fonds pour chercher des solutions à cette transmission qui se passe dehors, les stratégies majeures de lutte actuelles visant les moustiques qui piquent et se reposent à l'intérieur.

Globalement la densité était plus forte à Gomitogo situé dans la zone sahélienne et plus faible à Taliko dans la zone péri-urbaine en 2010 et 2011. Sur l'ensemble des sites, la plus forte densité était enregistrée au mois de septembre en 2010. La plus faible pour la même année(2010) était enregistrée en juin pour Binko et Woroni, en octobre pour Boudofo et gomitogo et Taliko.

En 2011 l'évolution de la densité a varié d'un site à un autre. En effet les densités étaient plus fortes au mois de juin à Taliko, et juillet à Gomitogo, au mois d'août à Boudofo et au mois de

septembre pour Binko et Woroni. Les densités étaient pour la même année(2011) plus faibles en mois de juin à Gomitogo, Boudofo et Binko et en mois de juillet pour Woroni et Taliko.

Au cours des passages, l'agressivité était la plus élevée à Gamitogo et la plus basse à Taliko tan en 2010 qu'en 2011. En 2010, l'agressivité la plus élevée était enregistrée au mois de septembre sur l'ensemble des cinq sites. Cette agressivité était plus basse au mois de juin à Binko et Woroni et au mois d'octobre à Gomitogo, Boudofo et Taliko. En 2011, l'évolution de l'agressivité était différente de celle observée en 2010. Cependant, l'agressivité était plus élevée au mois de juin à Taliko, au mois de juillet à Gomitogo, au mois d'août à Boudofo et au mois de septembre à Binko et Woroni. . Cette agressivité était plus basse au mois de juin à Boudofo et Gomitogo ; par contre cette agressivité était plus basse au mois de juillet à Binko, Taliko et Woroni.

Tout comme la densité et l'agressivité, l'évolution du taux d'inoculation entomologique était différente d'une année à l'autre et d'un site à l'autre. Le TIE était globalement plus élevé à Binko en 2010 et plus à Gomitogo en 2011.

En 2010, les taux d'inoculation entomologique les plus élevés étaient enregistrés au mois d'octobre pour les sites de Binko, Gomitogo et Woroni ; ce taux était plus élevé en aout à Boudofo. Ce taux était nul au cours des quatre mois de passage à Taliko. En 2011, les taux d'inoculation entomologique les plus élevés étaient enregistrés en août à Boudofo, Gomitogo, Taliko et Woroni. Ce taux était nul au cours des quatre mois de passage à Binko.

La comparaison de la moyenne annuelle selon le site a révélé que la moyenne la plus élevée de la densité et de l'agressivité était enregistrée à Gomitogo en 2010 et 2011.La moyenne la plus forte du TIE était enregistrée à Binko en 2010 et à Gomitogo en 2011.

Le bendiocarbe était efficace contre les moustiques de trois sites (Binko, Bodofo, Gomitogo,) où a eu lieu le test de susceptibilité. Par contre les moustiques de Woroni ont montré une résistance contre le bendiocarbe. Ces résultats montrent que le bendiocarbe est l'insecticide de choix pour les méthodes de lutte anti-vectorielles dans les sites sentinelles.

Les résultats de la présente étude montrent un aperçu entomologique en ce qui concerne le paludisme dans les sites sentinelles. Cependant elle a des limites. L'étude s'est étendue sur cinq sites ; la variation spatiale serait peut-être beaucoup plus visible si plusieurs sites étaient inclus. Une autre limite de la présente étude se situe au niveau de l'analyse de la résistance

aux insecticides. En effet l'analyse moléculaire pour la confirmation de l'implication du gène kdr n'a pas été effectuée. Malgré ces insuffisances cette étude reste une base scientifique pour orienter le programme national de lutte contre le paludisme dans le choix des stratégies de lutte anti vectorielle au Mali. Elle décrit les espèces et formes moléculaires du vecteur. Elle décrit le comportement de piqûres du dit vecteur. Enfin elle définit l'insecticide le plus efficace.

Une étude pouvant élucider la relation entre les paramètres entomologiques et climatiques (température, humidité relative et pluviométrie) est nécessaire. Cela pourrait aider à comprendre en dehors des facteurs environnementaux l'évolution et la variabilité des paramètres entomologiques de base dans les sites sentinelles.

8. Recommandations :

Au terme de notre étude nous formulons les recommandations suivantes adressées :

Au DERSP :

- Encouragez les apprenants dans cet exercice qui leur permet surtout de réconcilier la théorie à la pratique ;
- Réaliser une étude pouvant mettre en relation les paramètres entomologiques, épidémiologiques et climatiques.

Au Programme national de lutte contre le paludisme :

- La mise en place d'une équipe pluridisciplinaire composée surtout d'épidémiologiste, d'entomologistes et biologistes ;
- La pérennisation et l'extension de telle étude pour mieux orienter les différentes méthodes de lutte contre le paludisme ;
- La mise en place d'un « model » pouvant prédire la variation des paramètres entomologiques et épidémiologiques du paludisme au Mali.

9. Conclusion :

Cette étude dont le but était d'étudier la transmission entomologique du paludisme dans cinq sites sentinelles situés dans différentes zones éco-climatiques au Mali en 2010 et 2011 nous a permis de faire une illustration de la variation des paramètres entomologiques de base et le comportement de piqûre d'*An. gambiae sl.*

Les paramètres entomologiques de base variaient différemment d'une année à l'autre et d'un site à l'autre. Il a été constaté sur certains de nos sites que les pics de la densité et l'agressivité précédaient ceux du TIE et TI d'à peu près un mois.

De telle étude peu d'une pars fournir des données de base en prélude aux différentes méthodes de lutte contre le paludisme dans ces sites et d'autre pars orienter les décideurs par rapport à la prise de décision.

« Ce travail a été réalisé grâce à l'aide généreuse du Peuple américain (USAID). Le laboratoire de génomique des vecteurs du département d'entomologie est responsable du contenu qui ne reflète pas nécessairement les points de vue de l'USAID ou du gouvernement des Etats Unis. Financement: CA 688-A-00-10-00077-00 »

10. Bibliographie :

1. OMS. Rapport sur le paludisme dans le monde; 2014 Contract No.: Document Number |.
2. Cellule dP, et de Statistique. Enquete Démographique et de Santé (EDSM V). [Rapport]. 2012-2013:142.
3. Mali Dns. Annuaire SLIS 214. Rapport; 2014 Contract No.: Document Number |.
4. Yéya T. Bio-écologie des anophèles (DIPTERA-CULICIDEA) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mal; incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de bancroft (Village de Banambani, arrondissement de Kati). . [Centre Pédagogique Supérieur de BamakoThèse de 3e cycle Entomologie]. 1979.
5. Sangaré D. Dynamique des populations d'*Anophèles gambiae s.l.*, d'*An. funestus* et de *plamodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguébougou(arrondissement central de Kati). [Thèse de doctorat ISFRA-Bamako]. 2000.
6. Sixte Blanchy AR, Gerarad Ranaivoson. Surveillance épidémiologique du paludisme instable. Cahier d'études et de recherches francophones/Santé. [Synthèse]. 1993;3,.
7. Hoshen MB, Morse AP. A weather-driven model of malaria transmission. Malaria journal. 2004 Sep 6;3:32.
8. Mali Dns. Annuaire SLIS 2010. Rapport; 2010 Contract No.: Document Number |.
9. Mali Dns. Annuaire SLIS 2011. Rapport; 2011 Contract No.: Document Number |.
10. Mali MdiEedIADNdEeF. QUATRIEME RAPPORT NATIONAL SUR LA MISE EN ŒUVRE DE LA CONVENTION SUR LA DIVERSITE BIOLOGIQUE; 2009 Contract No.: Document Number |.
11. Dembele A. Evaluation du processus de mise en œuvre du projet partenariat intégré de lutte contre le paludisme (IPMA) dans la zone irriguée de riziculture de Sélingué au Mali 2014.
12. Fane M. Impact du climat sur l'ecologie et la transmission du paludisme : analyse du risque palustre dans le septentrion malien [Tèse doctorat université Grenoble]; 2011.

Enquêteur:**II. Protocole : Test de détection d'antigène Circumsporozoite Protein (CSP)**

- mettre individuellement les têtes-thorax dans les tubes eppendorf de 1,5ml ;
- porter les références (date, lieu et méthode de capture, l'espèce capturée) ;
- ajouter 50 µl de BBNP40 (Nonitep P-40) dans chaque tube ;
- écraser mécaniquement à l'aide de petit pilons et ajouter 200 µl de BB ;
- établir les fiches correspondants aux plaques de microtitrations, et vérifier que des puits sont bien réservés 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 mn à la température ambiante ;
- aspirer l'anticorps non marqué, mettre 200 µl de BB (Blocking Buffer) et laisser incuber une heure de temps ;
- aspirer le BB, puis mettre 50µl de broyat de moustique dans les puits correspondants ;
- mettre en même temps les contrôles négatifs et positifs dans les puits correspondants et laisser incuber pendant deux heures ;
- aspirer les broyats de moustiques et laver les plaques deux fois avec le 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 du substrat révélateur (substrat ATBS) par puits et faire la lecture visuellement après 30 mn.
- Les puits colorés en vert correspondent aux moustiques positifs c'est-à-dire la CSP protéine a été trouvée.

✓ Préparation des solutions

- **Solution de BBNP-40** : mélanger 5 ml de BB avec 24 μ l de NP40 et agiter pendant 15 mn.
- **Solution de lavage (PBS Tween)** : dissoudre 9,65 g de PBS dans 1000 ml d'eau distillée et ajouter 500 μ l de Tween 20.
- **Solution d'anticorps monoclonal non marqué** : pour une plaque prendre, 5ml de PBS et ajouter 20 μ l d'anticorps.
- **Solution d'anticorps monoclonal marqué** : pour chaque plaque pris 5ml de BB et ajouter 10 μ l d'anticorps.
- **Solution de révélation** : pour une plaque mélanger 5 ml d'ATBS peroxydase substrat à 5 ml de peroxydase solution B, et agiter pour ainsi obtenir 10 ml par plaque.
- **Solution de BB (Blocking Buffer)** : pour un volume de 1000 ml : prendre 100 ml de NaOH à 0,1 N et 5 g de caséine, et bouillir l'ensemble tout en agitant doucement ; une fois à l'ébullition est arrêter le chauffage et petit à petit ajouter 900 ml de PBS tout en agitant doucement. Ensuite ajouter 0,1 g de thimerosal et 0,02 g de phénol rouge.
- Régler le pH à 7,4 par addition du HCl.
- **Contrôle (Vial III)** : prendre 1 μ l de Vial II et ajouter 500 μ l de BB.