

Ministère de l'Enseignement Supérieur,
et de la Recherche Scientifique

République du Mali
Un Peuple Un But Une Foi



UNIVERSITÉ DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



**FACULTE DE PHARMACIE
(FAPH)**

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2020-2021

Thèse N° :

TITRE :

**ÉTUDE ENTOMOLOGIQUE DE BASE AVANT LA MISE EN ŒUVRE D'UN
PROGRAMME DE PULVÉRISATION INTRA DOMICILIAIRE POUR
LUTTER CONTRE LE PALUDISME A KOMANA, DANS LE DISTRICT
SANITAIRE DE YANFOLILA AU MALI**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 25/06/2021 devant la Faculté de Pharmacie

Par M. AMADOU DIALLO

Pour obtenir le grade docteur en pharmacie

(Diplôme d'État)

Jury :

Président : Prof Ababacar I. MAÏGA

Membres : Prof Guimogo DOLO

Prof Lansana SANGARE

Co-directeur : Prof Moussa BM CISSE

Directeur : Prof Ousmane KOITA

*Ce travail réalisé au laboratoire de biologie moléculaire appliqué a reçu l'appui financier
de la société des mines de Komana*

**LISTE DES MEMBRES DE L'ADMINISTRATION ET DU CORPS ENSEIGNANT
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE ANNÉE UNIVERSITAIRE 2020-2021**

ADMINISTRATION :

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur.

Vice-Doyen : Sékou BAH, Maître de conférences.

Secrétaire Principal : Seydou COULIBALY, Administrateur civil.

Agent Comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des finances.

PROFESSEURS HONORAIRES :

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Mahamadou	CISSE	Biologie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie Thérapeutique
8	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
9	Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
10	Alou A.	KEITA	Galénique
11	Mamadou	KONE	Physiologie
12	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
14	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
15	Saïbou	MAÏGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
17	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

➤ Professeurs / Directeurs de recherche :

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique / Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie Moléculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

➤ Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique /Bio-Statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie CHEF DE DER
4	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
5	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
6	Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé Environnement

➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie Clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique

5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
8	DjénébaKoumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Kléligui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
15	Biramaapho	LY	Santé Publique
16	AlmoustphaIssiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OULOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Sante Publique/Sante Communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

➤ Assistants / Attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Djénéba	Coulibaly	Nutrition /Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen Dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé Publique/Sante Environnement
6	N'DeyeLallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

➤ Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie

2	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie CHEF DE DER
---	-------	--------	-----------------------------------

➤ Maitres conférences/ Maitres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
-	Néant	-	-

➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

➤ Assistants attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique

12	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
13	Mohamed Dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

➤ Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

➤ Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Sékou	BAH	Pharmacologie CHEF DE DER

➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimie
2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	HamadounAbba	TOURE	Bromatologie

➤ Assistants / Attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOUCO	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou Dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique

8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

➤ Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mouctar	DIALLO	Biologie CHEF DE DER
2	Mahamadou	TRAORE	Génétique

➤ Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliqué

➤ Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie Végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie Médicale

➤ Assistants / Attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

➤ Chargés de cours (vacataires)

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
----	---------	-----	------------

1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit Commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie Organique
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie Organique
9	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10	Modibo	SANGARE	Anglais
11	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
12	Fana	TANGARA	Mathématiques
13	Djénébou	TRAORE	Sémiologie Et Pathologie Médicale
14	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
15	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DÉDICACES

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux. Louange à Allah seigneur de l'univers.

Je dédie ce travail :

À mon très cher père Mamadou Alpha DIALLO

Papa ce présent travail est le fruit de tes nombreux efforts fournis pour mon éducation et ma formation, je ne saurais trouver les mots adéquats pour t'exprimer ma profonde gratitude. Tes énormes sacrifices consentis pour ta famille, ton immense amour pour tes semblables et ton dévouement sont des qualités qui nous ont permis de te voir comme une référence et un modèle à suivre. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À ma très cher mère Houleye DIALLO

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Vous êtes mon paradis sur terre !!!

À mes frères et sœurs Oumar DIALLO, Amadou O. DIALLO, Abdoulaye DIALLO, Boubacar DIALLO, Ibrahim DIALLO, Sadou DIALLO, Moustaphe DIALLO, Aissata DIALLO, Mariam DIALLO, Adama DIALLO, Fatoumata DIALLO, Kadiatou DIALLO,

Votre accompagnement et votre soutien du début jusqu'à la fin de mon parcours scolaire n'a jamais fait défaut. Les moments passés en votre compagnie sont les plus beaux souvenirs qui seront gardés dans ma mémoire pour le restant de mes jours. Je n'ai jamais douté que vous étiez là pour moi et j'espère qu'un jour j'aurai la chance de vous rendre la monnaie de votre pièce.

À tous et à chacun merci pour tout.

REMERCIEMENTS

Je rends grâce à Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux, qui nous a permis de réaliser ce travail.

Mes remerciements les plus sincères :

À la famille DIALLO et GASSAMA

De près ou de loin, j'ai reçu des encouragements de la part de tout un chacun, soyez rassuré de ma sincère reconnaissance et j'espère être à la hauteur des attentes dans les jours à venir.

À M. Kissima GASSAMA, Mme GASSAMA Fatoumata DJANKA et Mme GASSAMA Assan KONE

Votre accueil chaleureux, vos bénédictions, votre accompagnement et votre soutien au cours de mon parcours universitaire a été d'un grand soulagement. Puisse Allah vous garder longtemps auprès de nous. Amine !

À mes ami(e)s : Me. Salif DAGNON, Mahamadou SIDIBE, Abdoulaye SISSOKO, Sidi COULIBALY, Fatoumata dite paye tata SYLLA, Rougui TRAORE, Dr Mahamane TRAORE, Tahirou BAH, Dr Madiba SISSOKO, Mahamadou TRAORE, Dr Daouda DIARRA, Dr Amadou DJITEYE.

Vous avez toujours été là à chaque fois que le besoin s'est fait ressentir, vous rencontrez au cours de mon existence fut la plus belle chose qui puisse jamais m'arriver. Merci à vous d'être parmi les piliers de ma vie.

À tous les membres de la 11ème promotion « Promotion Feu Pr Moussa HARAMA »

Être membre et président de cette promotion est le plus grand privilège que Dieu m'a offert au cours de mon parcours. Les années passées ensemble à la faculté furent denses, non seulement en apprentissage, mais aussi en émotions fortes. Je suis fier d'appartenir à cette promotion unie et solidaire. Je souhaite un avenir radieux et une bonne carrière professionnelle à tous.

À mes camarades de thèse : Ibrahim BAGAYOKO, Abdoulaye CAMARA, Youssouf DOUMBIA, Souleymane KABA, Zaynab TOURE, Alpha DIALLO, Amadou DIAKITE

Nous avons collaboré durant l'un des moments les plus cruciaux de nos vies. Je ne suis pas près d'oublier nos expériences et nos bons moments passés au laboratoire.

À tout le personnel de la pharmacie DIAB

Vous m'avez accueilli à bras ouvert et vous m'avez donné l'amour du métier de pharmacien d'officine. Merci pour professionnalisme et votre considération.

À tout le personnel du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA)

Merci pour votre disponibilité et votre accessibilité qui n'ont jamais fait défaut. Je me suis senti en véritable scientifique à vos côtés.

À toute l'équipe de l'unité entomologie du LBMA : Prof Moussa BM CISSE, Ibrahim TRAORE, Yacouba DANSOGO, Alice DEMBELE, Lanzeni KONATE, Jean Marie SANOU, HAWA DOLO, Amadou DIAKITE

Partager la paillasse avec vous a été l'un des moments forts pour ce travail. Je vous remercie pour votre dynamisme et votre soutien.

À Korotoumou DIARRA et Oumou KEITA

Votre présence, votre soutien, votre dévouement et vos conseils m'ont été d'une aide précieuse pour la réalisation de ce travail. Merci pour tout.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Ababacar I. MAIGA

- Professeur titulaire de Toxicologie / Faculté de Pharmacie ;**
- Chargé de cours de Phytopharmacie / Faculté de Pharmacie ;**
- Directeur Adjoint de l'Institut National de Santé Publique (INSP).**

Cher Maître,

C'est pour nous un grand honneur de vous avoir comme président du jury. Vous nous avez reçus avec beaucoup d'aimabilité. Votre esprit d'ouverture et votre amour pour le travail bien fait vous procurent respect et considération. La qualité de vos enseignements fait de vous un Maître model.

Veillez accepter Cher Maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

Que Dieu vous donne une longue et heureuse vie.

À notre maître et juge

Professeur Guimogo DOLO

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

Cher Maître,

C'est un privilège que vous nous accordez en acceptant de juger cette thèse, nous en sommes très honorés. Votre simplicité et votre gentillesse nous ont beaucoup marqué.

Veillez recevoir cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

À notre maître et juge

Professeur Lansana SANGARÉ

- Maître de conférences en Parasitologie à la Faculté des Sciences et Technique (FST)**
- Chargé des cours de biologie moléculaire au département de biologie à la FST**
- Chef de l'unité de Parasitologie au LBMA.**

Cher Maître,

Permettez-nous de vous adresser nos remerciements les plus sincères.

Vous avez été au cœur de ce travail du début jusqu'à la fin.

Nous avons été très touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger à ce jury.

Retrouvez ici cher Maître nos sincères remerciements.

À notre maître et co-directeur de thèse

Professeur Moussa BM CISSE

- ❑ Maître de conférences en entomologie à l'institut polytechnique rural de formation et de recherche appliquée de Katibougou ;**
- ❑ Chargé des cours d'entomologie et de protection des végétaux**
- ❑ Chef de l'Unité d'Entomologie du laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) de l'université des sciences techniques et des technologies de Bamako.**

Cher Maître,

Nous ne saurons jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Votre disponibilité et votre rigueur font de vous un Maître à admirer. Veuillez accepter cher Maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

À notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Ousmane KOITA

- PhD Tulane University ;**
- Pharmacien Biologiste ;**
- Professeur titulaire de biologie moléculaire à la FAPH ;**
- Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée de la FST ;**
- Membre du comité scientifique interdisciplinaire et partenarial COVID-19 de l'IRD France ;**
- Président du comité scientifique et technique de l'INSP.**

Cher Maître,

Merci pour nous avoir accueilli dans votre service. Merci pour votre soutien, votre patience, vos encouragements et votre optimisme infaillible. Vous êtes une référence dans le domaine de la formation et de la recherche. Nous sommes fiers d'être comptés parmi vos élèves. Nous vous prions de trouver ici, cher Professeur, le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre immense respect

TABLE DES MATIÈRES

1.	INTRODUCTION	1
2.	OBJECTIFS	4
2.1.	Objectif général	4
2.2.	Objectifs spécifiques.....	4
3.	GÉNÉRALITÉS	5
3.1.	Épidémiologie du paludisme en Afrique et au Mali.....	5
3.2.	Distribution des vecteurs du paludisme en Afrique et au Mali	6
3.2.2.	Distribution géographique du groupe <i>Anopheles funestus</i>	8
3.3.	Stratégie de lutte contre le paludisme	9
3.3.1.	Stratégie de Lutte Anti Vectorielle	9
3.3.1.2.	La lutte Anti-Larvaire	10
3.4.	Historique de la Lutte Anti Vectorielle	10
3.5.	Problématique de la lutte anti vectorielle (LAV)	12
3.6.	La résistance des vecteurs du paludisme en Afrique	13
3.6.1.	Définition de la résistance	13
3.6.2.	Les différents types de résistances.....	13
3.6.2.2.	Résistance métabolique	14
3.6.2.3.	Résistance comportementale	15
3.6.2.4.	Résistance physiologique	15
3.7.	Importance des études de suivi et évaluation entomologique	15
4.	MATÉRIELS ET MÉTHODES	16
4.1.	Sites d'étude	16
4.1.1.	Localisation et caractéristiques physique	17
4.1.2.	Données démographiques.....	17
4.2.	Période et type d'étude	18
4.3.	Critère d'inclusion et de non inclusion.....	18
4.3.1.	Critères d'inclusion.....	18
4.3.2.	Critères de non inclusion	19
4.3.3.	Plan de l'étude	19
4.4.	Collecte des échantillons	19
4.4.1.	Capture de jour avec l'aspirateur Prokopack.....	19
4.4.2.	Capture de nuit avec les pièges lumineux CDC	20
4.4.3.	Collecte larvaire.....	21
4.5.	Identification des espèces de moustique vecteur du paludisme	21

4.5.1. Identification morphologique.....	21
4.5.2. Identification moléculaire	21
4.6. Détermination des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme	21
4.6.1. Détermination de la densité d' <i>An gambiae</i> s.l.....	22
4.6.2. Détermination du lieu de piquûre d' <i>An gambiae</i> s.l.....	22
4.6.3. Détermination de l'indice d'antigène sporozoïtique.....	22
4.6.4. Détermination de l'origine du repas de sang des vecteurs du paludisme	22
4.6.5. Détermination du taux d'inoculation entomologique.....	23
4.7. La sensibilité d' <i>An. gambiae</i> s.l. vecteur majeur du paludisme aux insecticides.....	23
4.8. Analyse et interprétation des résultats	24
4.9. Considération éthique	24
5. RESULTATS	24
5.1. Espèces de moustiques vecteurs du paludisme.....	24
5.1.1. Identification morphologique.....	24
5.1.2. Identification moléculaire.....	25
5.2. Paramètres entomologiques de la transmission du paludisme.....	26
5.2.1. Densité	26
5.2.2. Lieu de piquûre	27
5.2.3. Taux d'infection	28
5.2.4. Taux d'inoculation entomologique.....	28
5.2.5. Origine du repas sanguin des moustiques.....	29
5.3. Sensibilité des vecteurs aux insecticides	29
5.4. Les fréquences alléliques <i>Kdr</i> d'Afrique de l'Ouest et l'Est (<i>L1014S</i> et <i>1014F</i>).....	29
6. DISCUSSION	31
6.1. Vecteurs du paludisme.....	31
6.2. Paramètres entomologiques de la transmission	31
6.3. Sensibilités des vecteurs aux insecticides.....	32
7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	33
7.1. Conclusion	33
7.2. Recommandation	33
8. BIBLIOGRAPHIE.....	34
9. ANNEXES	40

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES

ADN	Acide désoxyribonucléique
A-T-C-G	Adénine-thymine-cytosine-guanine
An	<i>Anopheles</i>
CDC	Center of disease control and prevention
CSP	Circum sporozoite protein
CTAB	Cetyl trimethyl ammonium bromide
DDT	Dichloro diphenyl diethylchloro ethane
EDTA	Ethylène-diarnine-tétra Acétique
ELISA	Enzyme linked immuno-sorbent assay
GE	Goutte épaisse
IAS	Indice d'antigène sporozoïtique
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
IRD	Institut de recherche pour le developpement
KD	Knockdown
Kdr	Knockdown résistance
LBMA	Laboratoire de biologie moléculaire appliquée
m.a	Agressivité
MII	Moustiquaire imprégnée d'insecticide
n	nombre
NaOH	Soude caustique
OMS	Organisation mondiale de la santé
ORSTOM	Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer
<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P. Knowlesi</i>	<i>Plasmodium knowlesi</i>
<i>P. malariae</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
<i>P. vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>

PB	Paire de base
PBO	Butoxyde de pipéronyle
<i>PBS</i>	Phosphatase Buffer Saline
<i>PBS Tween</i>	Phosphatase buffer saline tween
PCR	Polymerase chain reaction
pH	Potentiel d'hydrogène
PID	Pulvérisation intra domiciliaire
PMI	President's malaria initiative
PNLP	Programme national de lutte contre le paludisme
PPN	Piqûre par personne par nuit
RBM	Roll back malaria
RTI	Research triangle international
s. l	Sensu lato
s. s	Sensu stricto
SLIS	Système locale d'information de la santé
SMK	Société des mines de Komana
T°	Température
<i>Taq</i>	Thermus aquaticus
<i>TBE</i>	Tris-borate-edta
TDR	Test de diagnostic rapide
TIE	Taux d'inoculation entomologique
USAID	Agence américaine pour le développement international
WHO	World health organization
μ	Micron
<i>ml</i>	Microlitre
μl	Microlitre
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius

LISTE DES FIGURES

Figure 1: <i>An. gambiae</i> s.l. lors de la prise de repas de sang.....	6
Figure 2 : Répartition des vecteurs principaux du paludisme en Afrique.....	8
Figure 3 : Organisation administrative de la zone d'étude et les villages d'étude.....	16
Figure 4: Plan de l'enquête de base.....	19
Figure 5 : Capture du jour des moustiques à l'aide d'un aspirateur prokopack à Bougoudalé (Site potentiel d'intervention).	20
Figure 6 : Capture de nuit des moustiques avec les pièges lumineux CDC à Bougoudalé (site potentiel d'intervention).	21
Figure 7 : Collecte larvaire.....	21
Figure 8 : Détermination de la sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides avec les bouteilles imprégnées d'insecticide (CDC) au LBMA	23
Figure 9 : Composition des espèces anophéliennes à Bougoudalé et à Soloba pendant les captures de jour et de nuit	25
Figure 10 : Caractérisation moléculaire des espèces Anophèles collectées à Bougoudalé et à Soloba lors des captures de nuit et jour et la collecte des larves.....	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : villages d'études.....	17
Tableau 2 : Répartition de la population.....	18
Tableau 3 : Densité de la population anophélienne (<i>An. gambiae</i> s.l.) et culucidienne (<i>Culex</i> et <i>Aedes</i>) au repos à l'intérieur des chambres dans les 2 villages.....	27
Tableau 4 : Lieu de piquêre des populations anophéliennes dans les 2 villages	27
Tableau 5 : Taux d'infection à <i>P. falciparum</i> (sporozoïte) par méthode de capture d' <i>An. gambiae</i> s.l	28
Tableau 6 : Le taux d'inoculation entomologique par nuit	28
Tableau 7 : Origine du repas sanguin des moustiques	29
Tableau 8 : Sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides	29
Tableau 9 : Fréquence des génotypes de résistance (kdr) de l'Afrique de l'Ouest et L1014S et 1014F de l'Afrique de l'Est.....	29

1. INTRODUCTION

Le paludisme est dû à des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par des piqûres de moustiques du genre *Anopheles* femelles infectés, appelés « vecteurs du paludisme » (OMS, 2018).

Il existe 5 types espèces de parasite responsables du paludisme chez l'homme, dont les plus dangereux sont *Plasmodium falciparum* et *P. vivax* (OMS, 2018).

En 2018, environ 228 millions de cas de paludisme sont survenus dans le monde avec environ 405 000 décès dus au paludisme. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont le groupe le plus vulnérable touché par le paludisme (OMS, 2019).

En 2018, sur 2 834 142 cas suspects de paludisme, (97,98%) ont été testés (TDR, frottis sanguin et GE) parmi lesquels 1 757 292 cas ont été confirmés (60,28 %). Trente-quatre virgule trente - deux pour cent (34,32%) des cas confirmés sont survenus chez les enfants de moins de 5 ans. Comparativement à l'année 2017, nous constatons une augmentation des seize virgule cinquante pour cent (16,50%) des cas confirmés. Au total 186 cas de décès ont été enregistrés en 2018 soit un taux de létalité de 0,065 ‰ contre 186 cas de décès en 2017 soit un taux de létalité de 0.076‰. Nous constatons une diminution de la létalité entre 2017 et 2018 (PNLP, 2018).

La lutte anti vectorielle (LAV) est le principal moyen de prévenir et de réduire la transmission du paludisme. Si la couverture par les interventions de LAV est suffisamment élevée (80%) dans une région donnée, l'ensemble de la communauté sera protégé (OMS, 2019).

En 1998, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a lancé l'initiative « Roll Back Malaria » (faire reculer le paludisme) dont l'un des piliers est la LAV. En effet, la LAV est l'une des composantes des stratégies globales de lutte antipaludique préconisées par l'organisation mondiale de la santé (OMS) et adoptée par le programme nationale de lutte contre le paludisme (PNLP). Elle est essentiellement basée sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII), la pulvérisation intra domiciliaire (PID) et la gestion des gîtes larvaires.

La PID existe depuis longtemps au Mali, bien que l'intervention n'ait jamais été mise en œuvre à grande échelle au niveau national. Dès 1904, les interventions environnementales à travers le programme « hygiène prophylactique » ont commencé à réduire les populations de moustiques dans les établissements européens et africains. Celles-ci ont été principalement

réalisées dans des zones urbaines telles que Bamako et Kayes. La PID avec le DDT a commencé en 1950 et s'est poursuivie pendant sept ans.

En 2008, le programme « president malaria initiative » (PMI) a commencé à soutenir le PNLN Mali dans la mise œuvre de la PID dans les districts de Bla et de Koulikoro (Konaté et al., 2018). Les activités premières de ce programme au Mali se sont déroulées de juillet en août 2008 et celle de la seconde en juin 2009 dans les districts de Koulikoro et Bla, l'insecticide utilisé était un pyréthrianoïde la lambda-cyhalothrine (ICON-10CS©) (Soumaré, 2010). En 2011, Barouéli est devenu le troisième district soutenu en matière de PID par le programme PMI avec un carbamate comme insecticide (bendiocarbe) suite à la découverte d'une résistance de *Anopheles gambiae* s.l aux pyréthrianoïdes (Koné et al., 2015). En raison de la résistance généralisée au pyréthrianoïdes et des coûts associés à la transition vers les insecticides organophosphorés, le nombre de districts couverts a été réduit à deux en 2015. Cependant, avec l'aide supplémentaire du programme UNITAID/ NGenIRS en 2016, la campagne PID a été réalisée dans le district de Fana en plus des districts de Barouéli et Koulikoro. Le programme de PID du PNLN et son partenaire PMI a été déplacée dans quatre districts (Mopti, Djénné, Bandiagara et Bankass) de la région de Mopti en 2017 à cause du taux élevé de l'incidence dans cette région comparer aux régions. La PID est également utilisée dans le secteur privé, avec au moins cinq sociétés minières au Mali fournissant un tel service dans les sites de résidence et les villages voisins (Konaté et al., 2018).

En 2002, l'utilisation des MII était considérée comme un outil préventif essentiel pour la lutte contre le paludisme au Mali. Dans les années 1990, le projet NetMark a été créé avec le financement de l'USAID et d'autres partenaires afin de soutenir la disponibilité des MII par le biais du marketing social. Le Mali a été sélectionné comme l'un des premiers pays d'Afrique à bénéficier d'un tel soutien. Entre 2003 et 2006, des réductions substantielles du coût unitaire des MII ont été mises en évidence dans le secteur du commerce de détail grâce au projet NetMark, ce qui a augmenté la disponibilité des moustiquaires dans le secteur privé en collaborant avec de grands fabricants de moustiquaires et un système de coupons dans un

district. Plus de 300 000 MII ont été distribuées au Mali à la clôture du projet en décembre 2006. Le PNLP Mali a annoncé la distribution de 12 226 202 MII à partir de 2018 par le biais de neuf campagnes de distribution de masse (Konaté et al., 2018).

Une résistance généralisée aux pyréthroïdes avec de haute intensité a été enregistrée entre 2016-2018 au Mali ce qui est susceptible de compromettre l'efficacité des MII aux pyréthroïdes. Les MII au pyréthriinoïde-PBO ou chlorfénapyr devraient permettre un meilleur contrôle d'*An. gambiae* s.l. La clothianidine et le pirimiphos-methyl insecticides sont actuellement utilisés pour la PID dans le cadre d'une stratégie de rotation basée sur la sensibilité confirmée dans cette étude (Cissé et al., 2015).

La société des mines de Komana (SMK) souhaitait mettre en œuvre la PID dans son camp de Komana et le village de Bougoudalé en 2019. Une intervention d'une telle envergure nécessite au préalable une connaissance du niveau de sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides recommandés pour la PID. Elle nécessite aussi la collecte de données de base sur les paramètres entomologiques de la transmission afin de pouvoir mesurer l'impact de l'intervention dans les sites cibles.

La présente étude a été initiée pour déterminer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et la sensibilité d'*An. gambiae* s.l. aux insecticides avant la mise en œuvre de la PID. Elle pourrait fournir des données à SMK pour le choix de l'insecticide et le niveau de la transmission du paludisme avant l'intervention.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Évaluer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme avant la mise en œuvre de la pulvérisation intra domiciliaire à Komana.

2.2. Objectifs spécifiques

- Identifier les espèces de moustiques vecteurs du paludisme ;
- Mesurer les paramètres entomologiques de base de la transmission du paludisme
- Déterminer la sensibilité d'*An. gambiae* s.l. vecteur majeur du paludisme aux insecticides

3. GÉNÉRALITÉS

3.1. Épidémiologie du paludisme en Afrique et au Mali

Le paludisme touche une centaine de pays dans le monde, particulièrement les zones tropicales défavorisées d'Afrique, d'Asie et d'Amérique latine. L'Afrique est, de loin, le continent le plus touché avec 90% des cas de paludisme recensés dans ses zones tropicales. Des épidémies peuvent survenir lors de mouvements de populations peu exposées au paludisme vers des zones hautement endémiques (Institut Pasteur, 2013)

Selon le rapport de l'OMS 2019 l'Afrique a enregistré 213 millions de cas de paludisme soit 93% du nombre total loin devant l'Asie du Sud-Est 3,4%, durant cette période le continent a enregistré 380 700 décès.

Dix-neuf pays d'Afrique subsaharienne et l'Inde ont concentré quasiment 85 % du nombre total de cas de paludisme dans le monde. Six pays, à eux seuls, ont enregistré plus de la moitié des cas : le Nigéria (25 %), la République démocratique du Congo 12 %, l'Ouganda 5 %, ainsi que la Côte d'Ivoire, le Mozambique et le Niger 4 % chacun (OMS,2019).

P. falciparum est le parasite du paludisme le plus prévalent dans la région Afrique de l'OMS ; il est en effet à l'origine de 99,7 % des cas de paludisme estimés en 2018, tout comme dans les régions Asie du Sud-Est (50 %), Méditerranée orientale (71 %) et Pacifique occidental (65 %).

L'incidence du paludisme a diminué dans la région Afrique de l'OMS, avec 294 cas pour 1 000 en 2010 contre 229 en 2018 (-22 %) et pendant la même période la baisse du nombre de décès dus au paludisme, en valeur absolue est passée de 533 000 décès en 2010 à 380 000 en 2018 (OMS, 2019). Cet impact est le résultat des progrès significatifs réalisés dans la mise à grande échelle des stratégies et interventions de lutte à savoir les tests de diagnostic rapide/combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (TDR/CTA), les MII, La PID, le traitement intermittent préventif (TPI) des femmes enceintes (IPTp-SP), la chimio prévention saisonnière (CPS) par un antipaludique combiné (SMC/AQ-SP). La mise à échelle des stratégies thérapeutiques et de LAV avec une couverture d'au moins 80 % restent un des défis majeurs dans les pays africains. La mise en évidence des foyers de résistance aux dérivés de l'artémisinine en Asie du sud-est et sa possible diffusion en Afrique est une épée de Damoclès sur les populations africaines. Aussi, le développement de la résistance d' *An. gambiae* s.l aux pyréthrinoïdes vient compliquer la situation (DOUMBO et al., 2015).

3.2. Distribution des vecteurs du paludisme en Afrique et au Mali

An. gambiae s.l. et *An. funestus* s.l. sont les deux principaux vecteurs du paludisme au Mali (Touré, 1979).

3.2.1. Distribution du complexe *An. gambiae* s.l.

Ce complexe regroupe sept espèces : *An. gambiae sensu stricto* ;(Giles, 1902) et *An. arabiensis*, *An. melas*, *An. merus* ; *An. bwambae*, *An. quadriannulatus* A, et *An. quadriannulatus* B (Hunt, et al.,1998). *An. melas*, *An. merus*, *An. bwambae*, *An. quadriannulatus* A, et *An. quadriannulatus* B ont un rôle nul ou faible dans la transmission du paludisme.



Figure 1: *An. gambiae* s.l. lors de la prise de repas de sang

Source : http://www.raywilsonbirdphotography.co.uk/Galleries/Invertebrates/000_invert_images/vector_images/JS8Q1287-Edit.jpg visité en décembre 2020

La distribution du complexe *An. gambiae* s.l est très localisée. *An. gambiae* et *An. arabiensis* ont une aire de distribution plus vaste en Afrique. *An. gambiae* est rencontré dans la quasi-totalité de l'Afrique subsaharienne non méridionale (Mali, Guinée, Cameroun etc.). *An. gambiae* est plus adapté aux zones de forêt et de savane humides alors qu'*An. arabiensis* est rencontré dans des environnements plus secs jusqu'aux bordures du Sahara (Fontenille, et al.,2003). Les deux espèces vivent parfois en sympatrie. Signalons que l'adaptation à des environnements différents d'*An. gambiae* s.s est due en grande partie à la présence

d'inversions chromosomiques polymorphes observées au niveau du chromosome 2. Ainsi on a distingué cinq formes chromosomiques en Afrique de l'Ouest qui sont : les formes Forêt, Savane, Bamako, Bissau et Mopti (Touré, et al., 1998 ; Coluzzi, et al., 1979-2003). La forme Forêt peuple le milieu forestier et de savane humide. Les formes Savane et Mopti se trouvent dans les environnements plus secs. Par contre Bamako est rencontré dans les zones de savane en bordure des cours d'eau. Devant les difficultés liées aux chromosomes polyténiques et l'impossibilité d'appliquer la cytogénétique sur tous les stades de développement, une approche moléculaire de l'identification des formes chromosomiques a été développée (Favia, et al., 2001). Elle consiste à chercher des marqueurs moléculaires des formes chromosomiques basées sur les mutations fixées sur les fragments inter géniques de l'ADN ribosomal (ADNr). Cette méthode a permis de différencier Mopti d'une part et Savane-Bamako d'autre part. Ces deux entités moléculaires ont été dénommées formes moléculaires M et S, respectivement (Snow, et al., 2005 ; Fanello, et al., 2002). Cependant M= Mopti et S= Savane-Bamako n'est pas valable dans tous les pays, mais il l'est au Mali, au Burkina Faso et en Côte d'Ivoire. La systématique est en constante progression, suivant les nouvelles découvertes génétiques. C'est ainsi que récemment, les formes moléculaires M et S du complexe *Anopheles gambiae* ont été érigées en taxons distincts : *An. coluzzii* pour la forme M et *An. gambiae* pour la forme S (Coetzee et al, 2013).

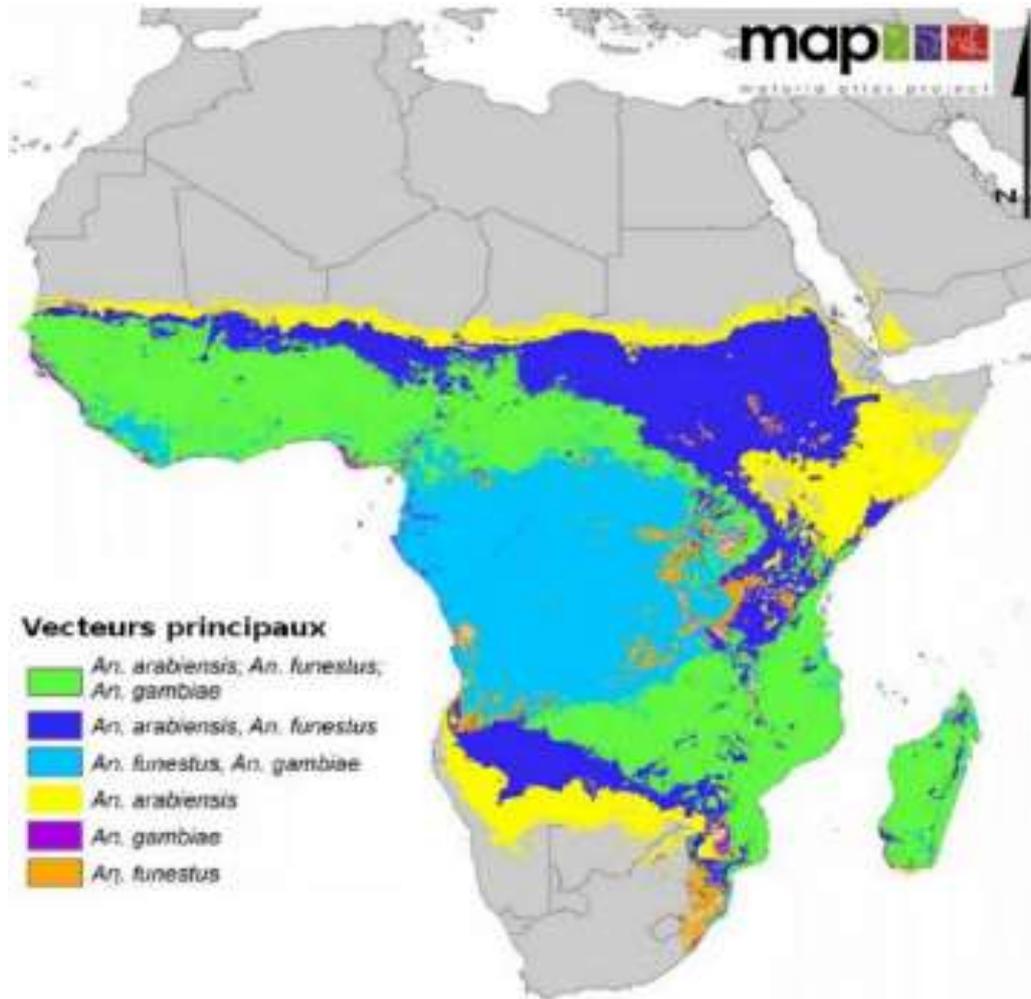


Figure 2 : Répartition des vecteurs principaux du paludisme en Afrique (Sinka et al., 2012)

3.2.2. Distribution géographique du groupe *Anopheles funestus*

Les espèces composant ce groupe sont mal connues et peu étudiées. Il comprend : *An. funestus s.s.*, *An. confusus*, *An. lesoni*, *An. rivulorum*, *An. rivulorum-like*, *An. brucei*, *An. parensis*, *An. aruni* et *An. vaneedeni*. Parmi la dizaine d'espèces décrites seul *An. funestus s.s.* est réellement vecteur du *Plasmodium*. Quant aux autres, elles ne sont généralement pas anthropophiles (Coetzee, et al., 2004). Par contre *An. rivulorum* a été retrouvé porteur de *Plasmodium* en Tanzanie (Wilkes, et al 1996).

An. funestus, est répandu dans toutes l'Afrique subsaharienne, mais abonde surtout dans les savanes ouvertes. Des études cytogénétiques menées au Burkina Faso ont permis d'émettre l'hypothèse de l'existence de deux formes chromosomiques dénommées Kiribina et Folonzo (Constantini et al., 1999). Au Mali, *An. funestus s.s.* est un des vecteurs majeurs de la transmission du *plasmodium*.

3.3. Stratégie de lutte contre le paludisme

La stratégie mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030 fixe le cadre général de la LAV et la repose sur 3 piliers principaux :

- Garantir l'accès universel à la prévention, au diagnostic et au traitement du paludisme
- Accélérer les efforts vers l'élimination et vers l'obtention du statut exempt de paludisme
- Faire de la surveillance du paludisme une intervention de base.

3.3.1. Stratégie de Lutte Anti Vectorielle

On distingue deux principales méthodes de LAV : la lutte contre les moustiques adultes et la lutte anti-larvaire.

3.3.1.1. Lutte contre les moustiques adultes

- Les moustiquaires imprégnées d'insecticide (physico-chimique)

La MII s'est affirmée en quelques années comme un outil privilégié de lutte contre le paludisme. Elle constitue une barrière efficace entre la personne qui dort en-dessous et le moustique vecteur. Ceci réduit les chances de piqûre et d'infection. L'insecticide en imprégnation permet également de tuer et de repousser tout vecteur susceptible de se poser sur la moustiquaire (Williams, et al, 2012). Ces moustiquaires sont tissées en polyester, en polyéthylène ou, plus récemment, en polypropylène, ces deux derniers matériaux étant plus résistants. Elles restent efficaces après au moins 20 lavages normalisés et conservent leur efficacité sur le terrain durant trois ans au moins, dans des conditions normales d'utilisation (Hougard, 2008). L'effet de masse se produit quand l'insecticide de la moustiquaire tue les moustiques qui la touchent, ce qui a des répercussions sur la population des vecteurs et diminue l'intensité générale de la transmission dans la zone couverte. Toutefois, dans un même foyer, l'effet protecteur des moustiquaires imprégnées est plus faible pour les personnes dormant en dehors des moustiquaires que pour celles qui dorment en dessous et l'OMS recommande donc d'atteindre la « couverture universelle », plutôt que d'atteindre, dans chaque ménage, un nombre prédéterminé de moustiquaires traitées (OMS, 2014).

- La Pulvérisation intra domiciliaire d'insecticides à effet rémanent

La PID consiste à pulvériser de l'insecticide chimique sur les murs intérieurs et des toits des habitations et autres structures (magasins, latrines, écoles, lieux de culte, etc.). Le but

visé par la PID est la réduction de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme. Les objectifs spécifiques étant la réduction de la densité et de la longévité des vecteurs avec comme conséquence la réduction de la transmission. L'effet irritant de certains insecticides (DDT, pyréthrinoides, certains carbamates), incite les anophèles à quitter plus ou moins rapidement les surfaces traitées. Cette méthode de lutte repose sur le comportement des vecteurs qui recherchent après chaque repas de sang des endroits tranquilles et sombre pour le repos et la digestion de sang. La PID permet ainsi de tuer les moustiques qui se posent sur les surfaces traitées avant et /ou après la prise de sang.

Le choix de l'insecticide et de sa formulation doit tenir compte de la sensibilité des vecteurs locaux, du support (nature des surfaces traitées) et de la durée de rémanence souhaitée du produit, en particulier par rapport à la durée de la saison de transmission.

La PID n'est recommandé que si :

- La population de vecteurs est en majorité endophile,
- Elle est sensible aux insecticides choisis,
- Une proportion importante des maisons ou structures dans la zone opérationnelle disposent de surfaces pouvant être traitées,
- Les pulvérisations sont faites correctement (OMS, 2014).

3.3.1.2. La lutte Anti-Larvaire

Les moyens de lutte contre les larves permettent d'empêcher la prolifération des moustiques.

La lutte contre les larves peut prendre plusieurs formes :

- Éliminer les lieux de ponte (drainage et assèchement des zones marécageuses), les modifier pour que les larves ne puissent plus s'y développer (curage des canaux pour que l'eau n'y soit pas stagnante),
- Rendre les lieux de ponte inaccessibles aux moustiques adultes (protection ou couverture étanche des réserves d'eau domestique),
- Introduire dans les lieux de ponte des poissons larvivores ou d'autres prédateurs,
- Épandre des larvicides (insecticides préparations bactériennes) et des inhibiteurs de croissance des insectes.

3.4. Historique de la Lutte Anti Vectorielle

Au tournant du dix-neuvième siècle, on s'est rendu compte que certaines espèces d'insectes et autres arthropodes ainsi d'ailleurs que plusieurs gastéropodes d'eau douce étaient responsables de la transmission de maladies importantes. Comme on ne disposait pas toujours de vaccins ou de médicaments efficaces contre ces maladies, il n'y avait souvent guère d'autre

solution que la destruction du vecteur pour les empêcher de se propager. Les premiers programmes de LAV consistaient à munir de grillages les ouvertures des habitations, à utiliser des moustiquaires (OMS, 1999). Les mesures de LAV ont longtemps reposé sur l'assèchement des régions marécageuses où pondent les anophèles. Ainsi, durant le premier quart du 19^e siècle, les premiers grands travaux de drainage et d'assèchement des zones humides furent entrepris dans les pays économiquement développés tels que l'URSS, les États-Unis, l'Italie, la France et la Hollande (Darriet, 2014). La découverte en 1940 des propriétés insecticides du DDT ou dichlorodiphényldichloroéthane, a constitué une avancée majeure dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle (OMS, 1999). L'utilisation à une large échelle du DDT, dont les propriétés insecticides n'ont été décrites qu'à la fin des années 1930, a commencé à partir de 1946. Des campagnes d'épandage ont été entreprises dans plusieurs pays d'Europe et d'Amérique avant d'être coordonnées par l'OMS, dès 1955, au sein d'un programme mondial d'éradication du paludisme. Ce fut l'époque de traitements fumigènes à partir de camions ou d'appareils transportés à dos d'homme pour traquer les moustiques jusque dans leurs lieux de repos et qui ont rythmé la vie quotidienne de tous les lieux habités, du moins dans les pays tropicaux. Cette guerre sans merci fut abandonnée en 1972 moins de vingt ans plus tard à cause des résultats mitigés, du coût devenu soudain inacceptable pour les promoteurs et du désastre écologique annoncé par les spécialistes de l'environnement. La résistance des anophèles aux insecticides, d'ailleurs apparue en 1953 avant même le lancement du programme mondial d'éradication, est la principale cause de l'échec de cette stratégie. La découverte d'insecticides biologiques pourtant prometteurs ou l'utilisation de prédateurs naturels soigneusement sélectionnés comme certaines espèces de poissons n'ont pas vraiment apporté de solution à ce problème.

Le mot n'est apparu qu'au 19^e siècle, mais la moustiquaire est d'un usage très ancien. Elle était déjà connue des Égyptiens qui la fabriquaient à partir de filet de pêche et se protégeaient, grâce à elle des «mouches» ; cela peut paraître surprenant lorsque l'on sait qu'elles devaient leur efficacité davantage à l'odeur de poisson qu'à la taille de leurs mailles. En Afrique, probablement importée par les Arabes au 11^e siècle, elle était utilisée par les élites. Les moustiquaires imprégnées d'une substance toxique pour les insectes ont été essayées dès 1930 avec, semble-t-il, un succès partiel. C'est à la fin des années 1970 que l'OMS, sous l'impulsion de deux chercheurs de l'ORSTOM (actuel IRD), Jacques Hamon et Guy Quélenec, qui y étaient en poste, recommanda de remplacer le DDT par un

pyréthrianoïde de synthèse, groupe de substances nouvellement découvertes comme insecticide utilisable en santé publique.

Dès 1975, des essais expérimentaux d'imprégnation de tissus entrant dans la confection des moustiquaires ont été effectués, d'abord avec des organophosphorés et un carbamate puis avec des pyréthrianoïdes. Avec l'appui financier de l'OMS, plusieurs essais de terrain ont été réalisés en Afrique, en Amérique latine et en Asie (Darriet, 2007). En 1983, au Burkina Faso, l'équipe de Pierre Carnevale, procéda à la première imprégnation de moustiquaires dans la ville de Bobo-Dioulasso (Hougard, 2008).

Le paludisme, toujours vainqueur, continue de défier l'intelligence humaine. L'OMS, revenue depuis les années 1990 à une stratégie plus réaliste, recommande aujourd'hui d'associer les diverses méthodes de lutte au sein d'un nouveau programme mondial, "Roll Back Malaria" : « Faire reculer le paludisme ». Son slogan est désormais « Réduire la morbidité – Prévenir la mortalité » (Darriet, 2007).

3.5. Problématique de la lutte anti vectorielle (LAV)

L'utilisation des MII peut induire le changement de comportement (exophilie) des vecteurs. Les moustiques auront plus tendance à prendre leur repas sanguin à l'extérieur qu'à l'intérieur des maisons (Chandre et al., 1999). Les MII se détériorent souvent avant les 4 à 5ans et ne sont plus rémanentes. Une évaluation des moustiquaires longue durée faite au Ghana 38 mois après la distribution a montré que plus de 50% des moustiquaires étaient endommagées, plus de 2023 trous ont été dénombrés sur 50 moustiquaires sélectionnées. Le diamètre des trous allait de 0,5 à 10 cm. Seules 14,6% sur 255 avaient la concentration d'insecticide de départ. 149 de ces moustiquaires étaient la marque permanent. Cependant il ressort que la durée des moustiquaires et l'efficacité dépend de plusieurs facteurs la manière d'usage, le climat, la démographie, le type de tissu et le produit pour l'imprégnation (Stephen et al., 2007). Les limites de la PID sont entre autres :

- Logistique très lourde (transport, stockage, pulvérisateurs formés, supervision des pulvérisateurs, accompagnement de la communauté, la fréquence des passages, la charge de travail),
- Capacité technique d'implémentation et la surveillance des vecteurs,
- Toxicité pour l'homme, les animaux et l'environnement,
- Difficulté d'avoir une couverture à grande échelle,
- Difficulté liée à la gestion des déchets,

- Difficulté d'adhésion de la population,
- Résistance des vecteurs aux insecticides et modification de leur comportement (exophile).

3.6. La résistance des vecteurs du paludisme en Afrique

3.6.1. Définition de la résistance

Selon l'OMS « La résistance d'une souche ou (rase) d'un insecte vis-à-vis d'un insecticide correspond au développement d'une capacité de tolérer des doses toxiques qui serait létales pour la majorité des individus d'une population normal de la même espèce »

3.6.2. Les différents types de résistances

La résistance liée à la modification de la cible, la résistance métabolique, la résistance comportementale et la résistance physiologique.

3.6.2.1. La résistance liée à la modification de la cible

- **La résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT**

La résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides a été détectée très tôt en Afrique. Cela a commencé par l'apparition des anophèles résistants à la dieldrine au Nigéria en 1954 puis quelques années plus tard au Burkina Faso et en Côte d'Ivoire (Adam, et al., 1958 ; Hamon, et al, 1963). Par la suite, la résistance au DDT a été détectée à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) et a coïncidé avec l'utilisation massive du DDT dans les cultures cotonnières. Cette résistance a ensuite été détectée en Côte d'Ivoire, au Nigéria, au Mali, au Sénégal, au Soudan, en Tanzanie, en Éthiopie et au Swaziland (Coz, et al, 1968 ; Touré, 1982). L'abandon du concept d'éradication des vecteurs du paludisme par le DDT, a conduit à un changement de stratégie et à l'adoption des pyréthrinoïdes en remplacement du DDT. Les stratégies utilisant les pyréthrinoïdes furent alors réorientées vers l'imprégnation des moustiquaires mais aussi la pulvérisation intra domiciliaire. Le premier cas de résistance des anophèles aux pyréthrinoïdes fut détecté à Bouaké en Côte d'Ivoire dans les populations d'*An. gambiae* s.s. (Elissa, et al, 1993). La résistance a été également associée à l'utilisation intensive des pyréthrinoïdes dans la culture du coton à partir des années 70. La mutation *kdr Leu-Phe* a été mise en évidence comme principal mécanisme impliqué dans cette résistance. Avec la mise au point d'un tel diagnostic moléculaire des mutations (Martinez-Torres, et al, 1998), la détection de cette résistance a été rendue facile et pratique. Plusieurs études en population naturelle d'*An. gambiae* ont rapporté que la mutation est présente en Afrique de l'ouest, du Sénégal au Nigéria (Akogbeto, et al, 1999 ; Yawson, et al, 2004). Les deux mutations *kdr-w* et *kdr-e* sont

maintenant décrites tant chez *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* en Afrique de l'Est mais aussi en Afrique Centrale et en Afrique de l'Ouest.

- Mise en évidence du gène *Kdr*

Les pyréthriinoïdes et le DDT ciblent le canal à sodium voltage dépendant. La fixation de l'insecticide sur le canal entraîne son ouverture et une hyperexcitation neuronale provoquant une paralysie de l'insecte (effet « knock down ») qui peut conduire à sa mort. Chez les moustiques, plusieurs mutations de ce gène (mutations *kdr* pour « knock down resistance ») telles que L1014F (substitution d'une leucine par une phénylalanine en position 1014) et L1014S (remplacement d'une leucine par une serine à la position 1014) entraînent une diminution de l'affinité de l'insecticide à la protéine, conférant une résistance accrue aux pyréthriinoïdes et au DDT.

- **La résistance aux carbamates et aux organophosphorés**

Le premier cas de résistance aux organophosphorés des vecteurs du paludisme en Afrique a été rapporté en 1983 chez *An. arabiensis* vis-à-vis du malathion et du penthoate au Soudan (Hemingway, 1983). Des baisses de sensibilité au propoxur et/ou au bendiocarbe (carbamate) ont été signalées chez *An. funestus* en Afrique du Sud (Brooke, et al, 2001). Des baisses de sensibilité au propoxur et/ou au bendiocarbe (carbamate) ont été récemment notées chez des populations d'*An. arabiensis* et d'*An. funestus* au sud du Mozambique (Casimiro, et al, 2006-2007). En Afrique de l'Ouest, notamment en Côte d'Ivoire, une résistance au propoxur avait été notée chez *An. gambiae* s.s. à Bouaké dès 1994 (Elissa, et al, 1994). Une décennie plus tard, une résistance au carbosulfan (carbamate) a été détectée dans des villages de Bouaké en Côte d'Ivoire (N'Guessan, et al., 2003).

La mise au point d'un outil moléculaire pour le diagnostic de la mutation G119S (mutation *acer-1R*), principal mécanisme impliqué dans la résistance croisée aux carbamates et aux organophosphorés (Weill, et al., 2004), à faciliter sa mise en évidence dans les populations naturelles d'*An. gambiae* d'Afrique de l'Ouest.

3.6.2.2. Résistance métabolique

D'autres mécanismes de résistance aux pyréthriinoïdes notamment impliquant les oxydases ont aussi été décrit dans la baisse de sensibilité des populations d'*An. gambiae* s.s. au Kenya (Vulule, et al, 1999) ainsi que des populations d'*An. arabiensis* au Nord Cameroun (Chouaïbou, et al., 2008 ; Etang, et al., 2007). Ces mécanismes sont aussi à la base de la résistance d'*An. funestus* aux pyréthriinoïdes en Afrique du Sud et au Sud du Mozambique (Amenya, et al., 2005 ; Hargreaves, et al., 2000).

3.6.2.3. Résistance comportementale

La résistance comportementale repose sur une modification du comportement de l'insecte lui permettant d'éviter un contact avec la molécule d'insecticide. La résistance comportementale est moins bien connue que les autres mécanismes de résistance.

3.6.2.4. Résistance physiologique

Elles résultent de l'apparition de mutations, à une très basse fréquence, dans des populations d'insectes. Lors des traitements insecticides massifs, ces mutants sont avantagés et tendent à remplacer la population initiale. Ces mutations peuvent concerner :

- la détoxification enzymatique des insecticides par des estérases, monooxygénases, transférases ;
- des mutations du site d'action des insecticides (récepteurs gamma-amino-butyric acid GABA) pour la dieldrine ;
- l'altération du canal sodium (gène kdr –knock-down résistance) pour le DDT et les pyréthrinoïdes ;
- la modification des acétylcholinestérases pour les organophosphorés et les carbamates.

3.7. Importance des études de suivi et évaluation entomologique

Pour lutter efficacement contre les vecteurs du paludisme, il faut bien connaître les espèces locales, leur sensibilité aux insecticides, leur comportement. Il est essentiel de collecter périodiquement ces données pour l'utilisation des stratégies de lutte et suivre leur impact sur la transmission du paludisme.

Il est également essentiel de veiller en permanence à la couverture, l'usage, la qualité et la durabilité des interventions de LAV après leur mise en œuvre. Par exemple, la durabilité des moustiquaires à imprégnation durable doit être suivie tout au long de leur utilisation sur le terrain car leur efficacité physique et chimique peut varier considérablement d'un lieu à un autre.

4. MATÉRIELS ET MÉTHODES

4.1. Sites d'étude

L'étude s'est déroulée dans deux villages du cercle Yanfolila : Bougoudalé et Soloba tous dans l'aire de santé de Fougatié (Figure 4 et Tableau 1). Yanfolila est situé au sud du Mali dans la région de Sikasso. Le cercle de Yanfolila compte 12 communes : Baya, Bolo-Fouta, Djallon-Foula, Djiguiya De Koloni, Gouanan, Gouandiaka, Koussan, Sankarani, Séré Moussa Ani Samou De Siékorolé, Tagandougou, Wassoulou-Ballé et Yallankoro-Soloba. La mine de Komana est située dans la zone pré-forestière (présence de 2 forêts classées, celles de Diangoumérela et de Djinétoumanina) le long du fleuve Sankarani qui sépare le Mali de la Guinée-Conakry.

Figure 3 : Organisation administrative de la zone d'étude et les villages d'étude

Source : <http://hummingbirdresources.co.uk/operations/yanfolila-gold-mine>

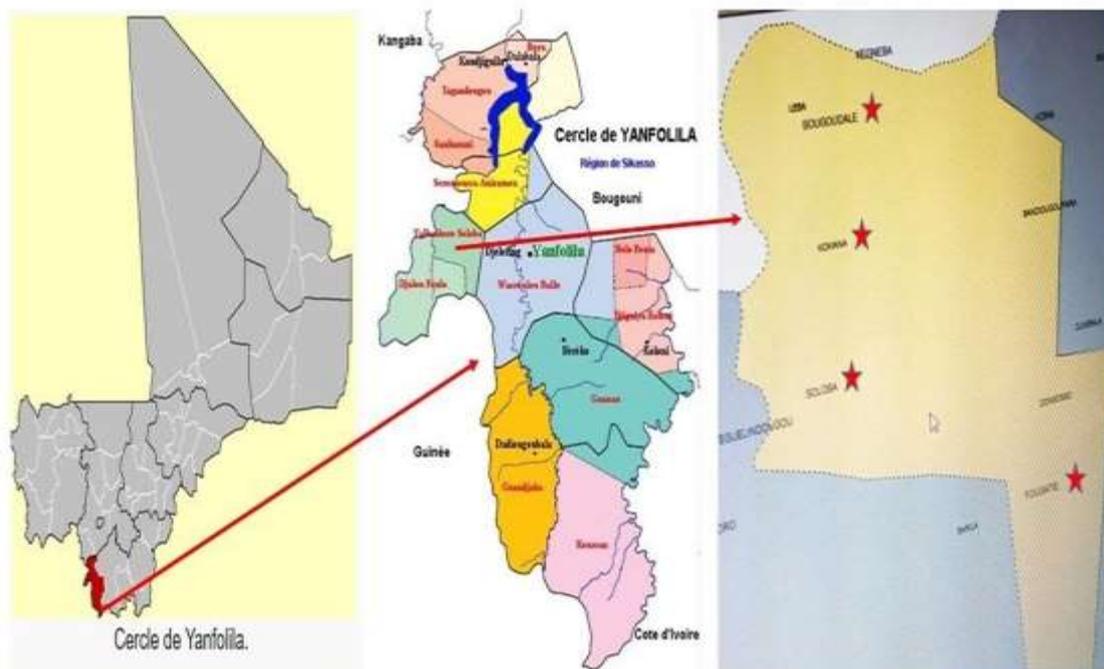


Tableau 1 : villages d'études

Aire de santé	Village/Site	Status
Fougatié	Bougoudalé	Potentiel Test/Intervention
	Soloba	Potentiel Témoin

4.1.1. Localisation et caractéristiques physique

La commune de Yallankoro Soloba se situe dans le sud-ouest du Mali (11°Nord/ 8° 27' Ouest) dans le cercle de Yanfolila de la région Sikasso. Elle est frontalière de la Guinée, séparée par un fleuve, le Sankarani, qui alimente le lac de barrage du Sélingué. La commune s'étend sur une superficie correspondant à un cercle de 10 km de rayon. Elle est composée de huit villages.

Le paysage est celui de la brousse, avec des arbres parfois imposants, de la savane herbeuse, des termitières et des pistes souvent impraticables.

Le climat est de type pré guinéen, la pluviométrie est assez abondante avec une moyenne annuelle de 1 200 mm. Il y a deux saisons : une saison pluvieuse de mai à octobre et une saison sèche elle-même divisée en deux périodes : l'une froide de novembre à février et l'autre chaude de mars à avril. Les fortes pluies ont une action de dégradation sur les sols sans couvert végétal (phénomène croissant avec le développement de l'agriculture et le défrichement des terres). La température moyenne annuelle oscille autour de 28°C. L'évapotranspiration moyenne est de 230 mm. Les vents dominants sont l'harmattan chaud et sec qui souffle de janvier à mars et la mousson chaude et humide de mars à avril.

Le relief est peu accidenté avec quelques plateaux. Le village appartient à la zone écologique du Haut Bani-Niger occidental. Les formations latéritiques occupent la majeure partie des sols.

La végétation est caractérisée par de très grands arbres dans la forêt, qui est constituée d'une forêt de transition entre la végétation soudano guinéenne et la savane arborée.

4.1.2. Données démographiques

La commune rurale de Yallankoro Soloba compte 14 652 habitants dont 7 029 hommes soit 47,97% et 7 623 femmes soit 52,03%. La population est majoritairement composée de peulhs et de bambaras, la langue parlée est le bambara. La répartition de cette population entre les différents villages est consignée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Répartition de la population / Projection de 2017 sur la base du RGPH 2009

Villages	Population 2017			Distance au chef-lieu commune
	Homme	Femme	Total	
Bandiougoufara	591	669	1 260	15 km
Bougoudalé	1 403	1 588	2 991	9km
Donsosso	781	701	1 482	14 km
Fougatié	1 255	1 275	2 530	12 km
Kégnéba	643	751	1 394	4 km
Komana	449	499	948	2 km
Lèba	325	327	652	4 km
Soloba	1 582	1 813	3 395	-
Total	7 029	7 623	14 652	

Source : Service Local du Plan, de la Statistique, de l'Informatique, de l'Aménagement et de la Population (SLPSIAP) de Yanfolila/ décembre 2017

Les paysans sont des agriculteurs/éleveurs de l'ethnie peulh et bambara. Ils cultivent le maïs, le riz, le sorgho, le coton, suivant les coutumes et la proximité du fleuve. Les labours et les semailles ont lieu dès le début des pluies, fin mai, et les récoltes, à la fin de l'hivernage, de mi-octobre jusqu'à mi-décembre. Après les récoltes il n'y a plus grand-chose à faire dans les champs.

Pour augmenter leurs ressources, les femmes font du maraichage, après la fin des récoltes lorsque les champs sont à nouveau libres. Les hommes font du petit commerce ou pratiquent l'orpaillage. Ils entretiennent aussi des champs d'orangers. Mais les rendements sont très faibles.

4.2. Période et type d'étude

L'étude s'est déroulée de novembre à décembre 2018. Elle était de type transversal à un passage dans les villages sélectionnés, un village potentiel pour la PID (Bougoudalé) et un village potentiel pour le contrôle (Soloba) (voir Figure 5)

4.3.Critère d'inclusion et de non inclusion

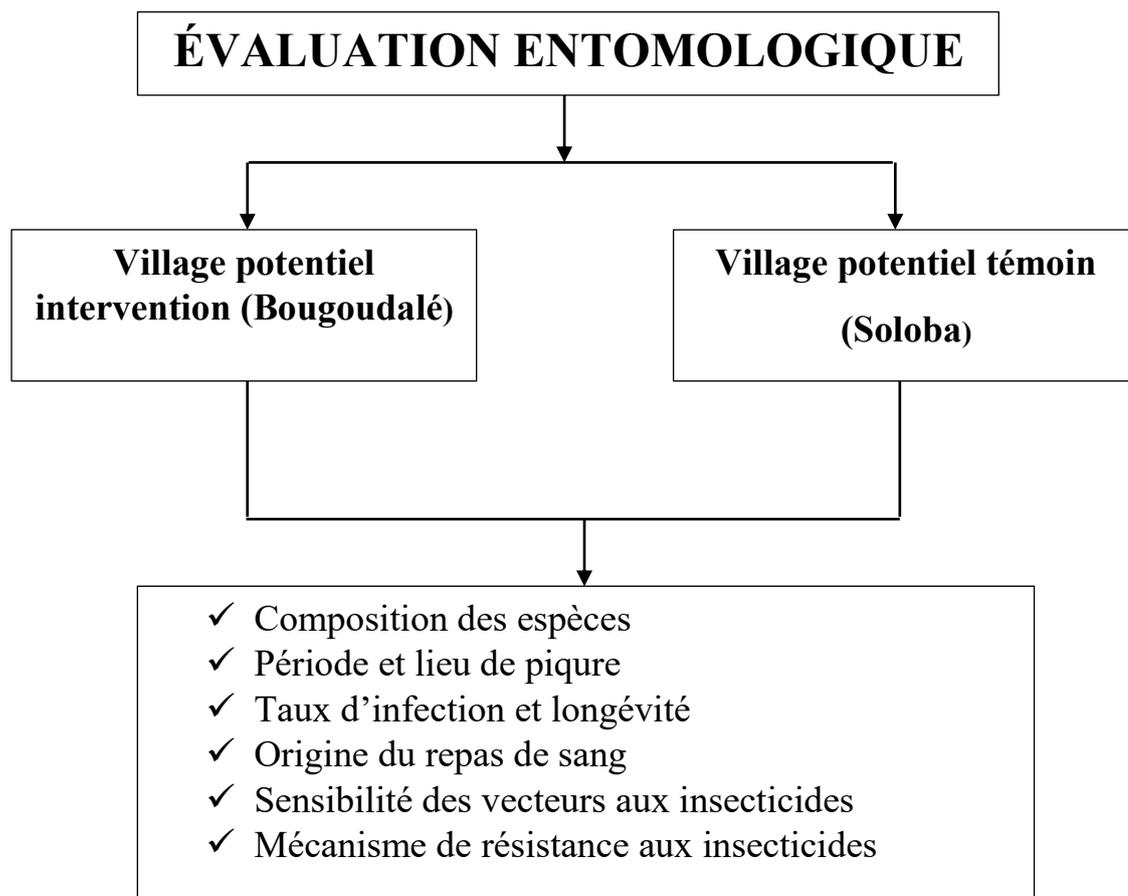
4.3.1. Critères d'inclusion

L'inclusion des habitations a été faite d'une manière aléatoire pour les investigations entomologiques, ainsi ont été inclus les habitations choisies aléatoirement en fonction des types de mur (ciment et banco) et de toit (chaume et tôle).

Les habitations retenues sont celles dont les propriétaires ont donné un consentement éclairé et volontaire.

4.3.2. Critères de non inclusion

Toutes les habitations choisies dont les chefs de ménage non pas donner leur consentement n'ont pas été inclus dans cette étude.



4.3.3. Plan de l'étude

Figure 4: Plan de l'enquête de base

4.4. Collecte des échantillons

4.4.1. Capture de jour avec l'aspirateur Prokopack

Les moustiques de la faune résiduelle ont été capturés avec un aspirateur prokopack à l'intérieur des chambres dans chaque village selon le protocole de John W. Hock 2012 a. (Figure 6). Les captures ont eu lieu entre 6 heures et 11 heures du matin dans 20 chambres (10 chambres par jour) par village pendant 2 jours consécutifs. Pour faire la capture des

moustiques, chaque village a été divisé en 2 blocs et les chambres ont été réparti entre ces 2 blocs en fonction des critères de sélection.



Figure 5 : Capture du jour des moustiques à l'aide d'un aspirateur prokopack à Bougoudalé (Site potentiel d'intervention).

4.4.2. Capture de nuit avec les pièges lumineux CDC

Deux séances de capture de nuit (CN) étaient organisées pendant deux nuits consécutives dans chaque village selon le protocole de John W. Hock 2012 b. Les captures ont été effectuées entre 18H et 06 du matin à l'intérieur et à l'extérieur de deux (2) chambres selon le critère de choix.

Intérieur



Extérieur



Figure 6 : Capture de nuit des moustiques avec les pièges lumineux CDC à Bougoudalé (site potentiel d'intervention).

4.4.3. Collecte larvaire

La collecte des larves était faite à Bougoudalé et Komana camp pour la réalisation des tests de sensibilité avec les bouteilles CDC. Les larves d'anophèles étaient collectées avec une louche de 350 ml selon le protocole décrit par l'OMS (2009). Elles étaient conservées dans des pots de collecte avec de l'eau de gîte, étiquetés avec le nom de la zone de collecte. Puis les pots étaient transportés dans une glacière à l'insectarium du LBMA.



Figure 7 : Collecte larvaire

4.5. Identification des espèces de moustique vecteur du paludisme

4.5.1. Identification morphologique

L'identification morphologique des espèces d'*Anopheles* a été faite avec la clé dichotomique et une loupe binoculaire selon le protocole décrit par (Diagne et al., 1994)

4.5.2. Identification moléculaire

L'identification moléculaire a été faite avec la technique de polymérisation en chaîne (PCR) selon le protocole de (Santolamazza et al., 2008) (voir annexe).

4.6. Détermination des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme

4.6.1. Détermination de la densité d'*An gambiae* s.l.

La densité (d) d'*An. gambiae* s.l. femelles par chambre était déterminée à partir des captures de jour au prokopack et correspond au nombre moyen d'*An gambiae* s.l. par chambre. C'est le nombre total (N) d'anophèles vecteur capturés divisé par le nombre (n) de cases prospectées.

$$d = \text{Nombre d}'An\ gambiae\ s.l\ \text{capturés} / \text{Nombre total de chambres prospectées}$$

4.6.2. Détermination du lieu de piqûre d'*An gambiae* s.l.

La détermination du lieu de piqûre préféré (endophagie et exophagie) des vecteurs était faite avec les captures de nuit au piège lumineux CDC.

Le taux de piqûre ou agressivité (m a), correspond au nombre moyen de piqûres reçues par homme et par unité de temps (nuit, semaine, mois, année).

$$ma = \text{Nombre d'anophèles femelles capturées} / \text{Nombre total de captureurs}$$

Le taux d'endophagie est le pourcentage de moustique capturé à l'intérieur des chambres.

$$\text{Taux d'endophagie} = (\text{Nombre de femelles capturées à l'intérieur} / \text{Nombre total de femelles capturées à l'intérieur}) \times 100$$

4.6.3. Détermination de l'indice d'antigène sporozoïtique

Les têtes –thorax des espèces vectrices capturées par CN ont été traités par ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) avec le lecteur de plaque ELX 808 (Bio Tek®) selon le protocole décrits par Beier (2002) pour la présence d'antigène sporozoïtique. L'indice d'antigène sporozoïtique (IAS) correspond au pourcentage d'anophèles femelle d'une espèce donnée ayant des sporozoïtes dans leurs têtes et thorax.

$$\text{IAS} : (\text{Nombre d'anophèle positif} / \text{Nombre d'anophèle examinés à l'ELISA}) \times 100$$

4.6.4. Détermination de l'origine du repas de sang des vecteurs du paludisme

La détermination de l'origine du repas de sang a été effectuée sur les abdomens de 100 moustiques vecteurs du paludisme par la technique d'ELISA selon le protocole décrit par Beier (2002) (voir annexe).

4.6.5. Détermination du taux d'inoculation entomologique

Le taux d'inoculation entomologique (h), représente le nombre de piqûres infectantes reçues par homme et par unité de temps (nuit, mois ou année). Il était déterminé selon la formule de Mac-Donald ci-dessous WHO (2002)

$$h = ma \times IAS$$

4.7. La sensibilité d'*An. gambiae* s.l. vecteur majeur du paludisme aux insecticides

Les tests étaient réalisés avec les membres *Anopheles gambiae* s.l. principales espèces vectrices au Mali dans des bouteilles imprégnées d'insecticides (CDC) selon le protocole décrit par Brogdon et McAllister (1998). Environ 100 moustiques femelles âgés de 2 à 5 jours ont été testées en quatre (4) répliquât de 25 moustiques femelles par bouteilles.

Les tests se sont déroulés à la température de 27°C à 28°C et entre 70-80% d'humidité relative (HR). Après exposition, les moustiques femelles recevaient une solution à 5% de sucre et étaient conservés pendant 24 heures dans des conditions ambiantes de température et d'humidité.

Les deux insecticides utilisés pour le test ont été : le bendiocarbe 12,5ug, et le pirimiphos-methyl 20ug.



Figure 8 : Détermination de la sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides avec les bouteilles imprégnées d'insecticide (CDC) au LBMA

4.8. Analyse et interprétation des résultats

Les données ont été saisies sur Microsoft Excel, le test de Man Whitney a été utilisé pour comparer les densités moyennes des moustiques et le test Z pour la différenciation des proportions dans deux populations a été utilisé pour comparer les taux d'infection. Le test de Chi2 était utilisé pour comparer les taux d'endophagie et d'exophagie (comportement).

Les résultats des bio essais avec les bouteilles CDC étaient classés selon les critères de classification de l'OMS (WHO, 2013) :

- Sensibilité = Taux de mortalité supérieur à 98%
- Possible Résistance = Taux de mortalité comprise entre 90% et 97%
- Résistance = Taux de mortalité inférieur à 90%

4.9. Considération éthique

Ce protocole a obtenu l'approbation du comité éthique institutionnel de l'INRSP (ministère de la santé et de l'hygiène publique, Mali). Le protocole a été expliqué à la population en langue locale afin d'obtenir leur approbation.

Avant de commencer l'étude, le consentement communautaire de la population des villages fut obtenu.

5. RESULTATS

5.1. Espèces de moustiques vecteurs du paludisme

5.1.1. Identification morphologique

Vingt-six (26) moustiques ont été collectés pendant le jour avec l'aspirateur et la nuit avec les pièges CDC à Bougoudalé (village potentiel d'intervention) et à Soloba (village potentiel de contrôle) en quatre (4) jour. Six (06) différentes espèces de moustique anophèles (*An. gambiae* s.l., *An. rufipes*, *An. zeimanni*, *An. funestus* s.l. et *An. pharoensis*) ont été identifiées morphologiquement. *An. gambiae* s.l était l'espèce la plus dominante des vecteurs de paludisme avec 65.38% (n=26) (Figure 9).

Les autres moustiques (*Culex* et *Aedes*) responsables de la transmission des arboviroses (la fièvre jaune, la dengue, le zika, le chikungunya) étaient capturés pendant cette période.

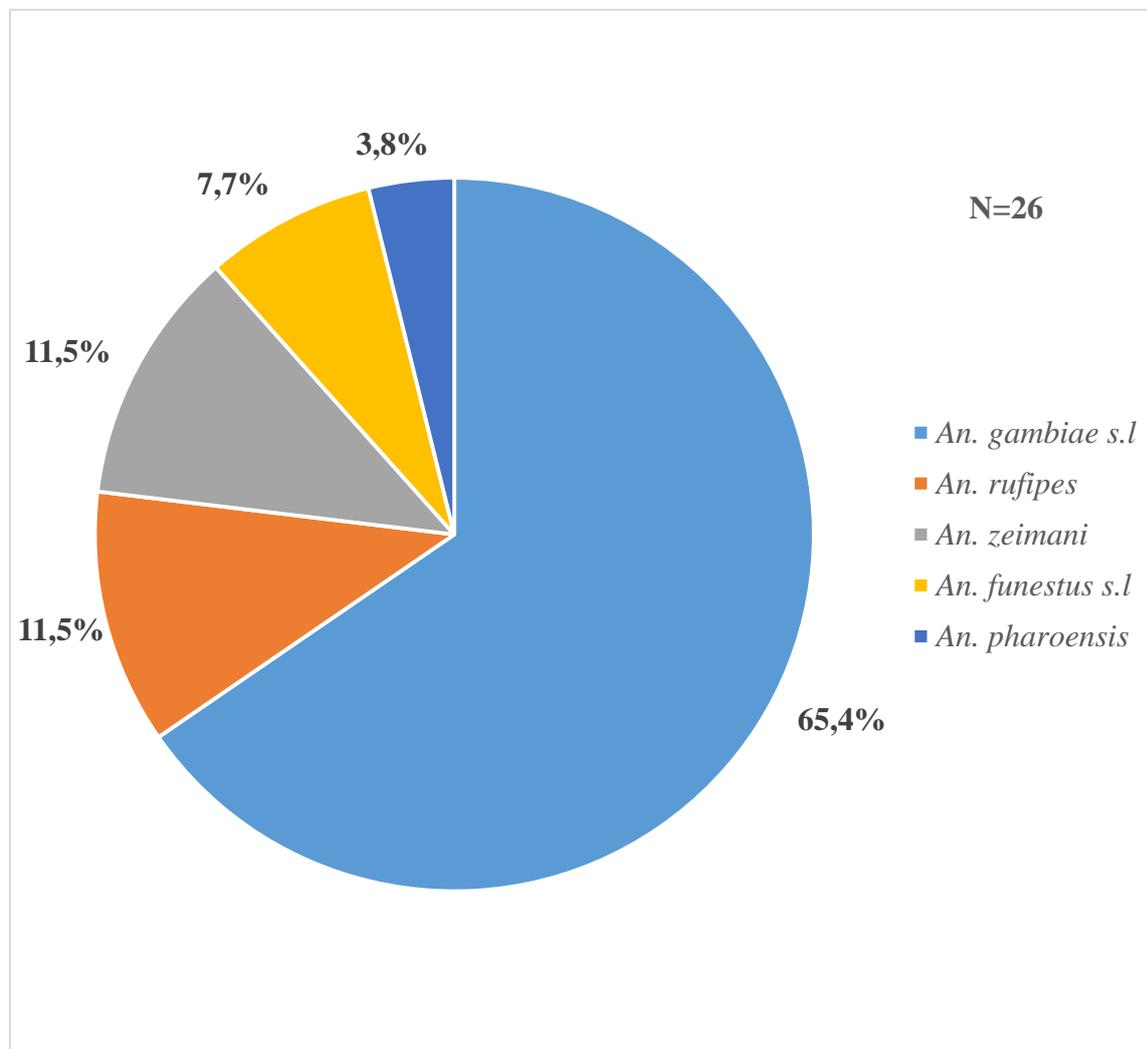


Figure 9 : Composition des espèces anophéliennes à Bougoudalé et à Soloba pendant les captures de jour et de nuit

5.1.2. Identification moléculaire

Un total de 86 moustiques ((20) issu des captures du jour et de nuit et (66) de la collecte de larves) ont été utilisés pour la caractérisation moléculaire des espèces. *An. coluzzii* membre du complexe *An. gambiae s.l.* était l'espèce prédominant 65.1% (n=86) suivi de d'*An. lesoni* membre du complexe *An. funestus s.l.* 17.4% (n=86) (Figure 10).

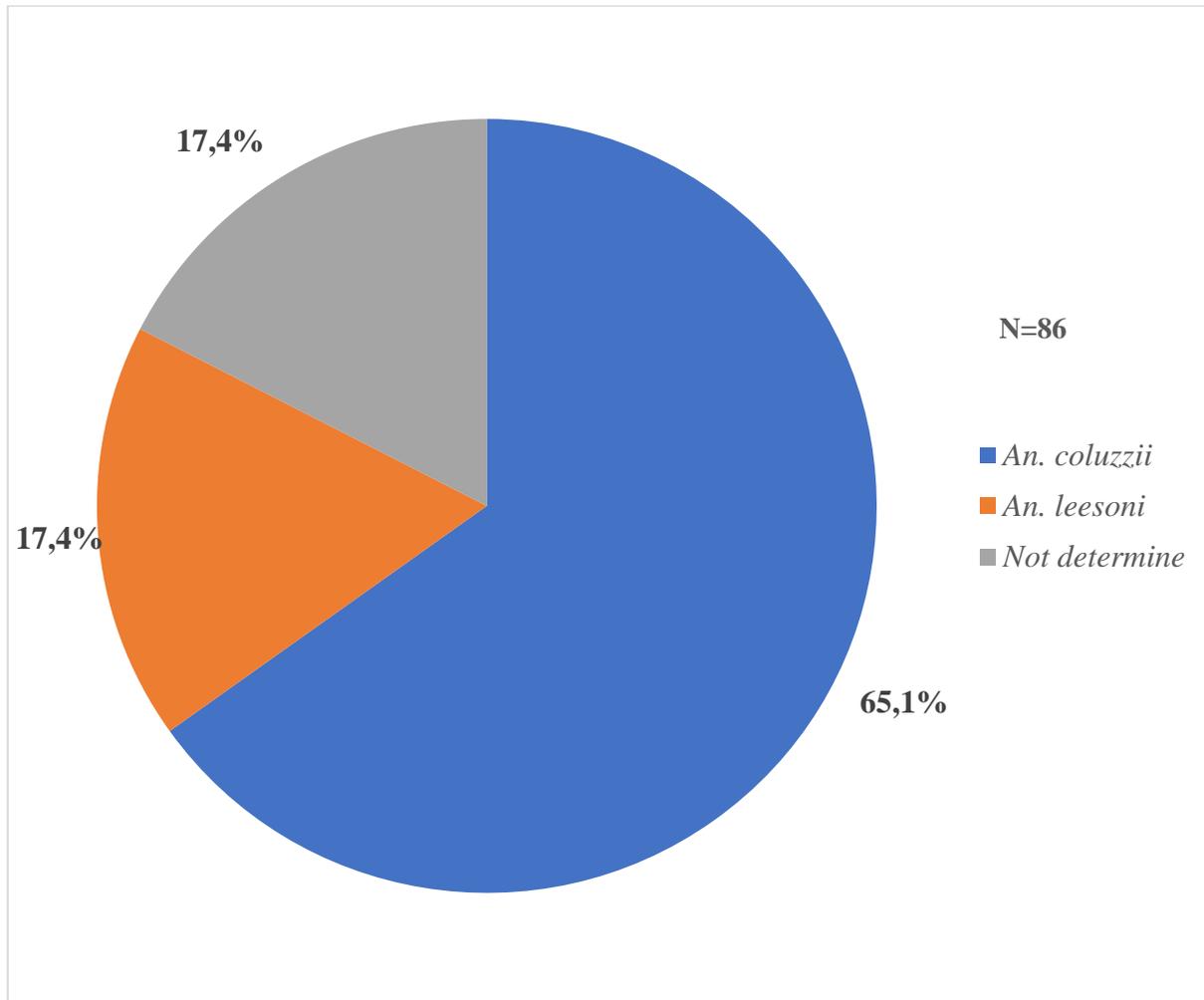


Figure 10 : Caractérisation moléculaire des espèces Anophèles collectées à Bougoudale et à Soloba lors des captures de nuit et jour et la collecte des larves

5.2. Paramètres entomologiques de la transmission du paludisme

5.2.1. Densité

La densité du principal vecteur du paludisme *An. gambiae* s.l au repos à l'intérieur des chambres était 0,25 moustiques / chambre / jour à Bougoudalé et 0,20 moustiques / chambre / jour à Soloba. La densité des autres moustiques (*Culex* et *Aedes*) était élevée avec 10,2 moustiques / chambre / jour à Bougoudalé et 3,8 moustiques / chambre / jour à Soloba (Tableau 3).

Tableau 3 : Densité de la population anophélienne (*An. gambiae s.l.*) et culucidienne (*Culex* et *Aedes*) au repos à l'intérieur des chambres dans les 2 villages

Village	Bougoudale (potentiel d'intervention)		Soloba (potentiel témoin)	
	Anophèles	Culicidés	Anophèles	Culicidés
Nombre de femelle capturée	5	205	4	75
Pourcentage de femelle capturée	2,3%	97,7%	6,2%	93,8%
Nombre de chambre	20	20	20	20
Densité/Chambre/Jour	0,25	10,2	0,20	3,8

La densité dans les deux villages était comparable (0,25 et 0,2)

5.2.2. Lieu de piqûre

Le taux d'agressivité des moustiques à l'intérieur et à l'extérieur par nuit était bas dans les 2 sites (< 1 piqûre par nuit). Les vecteurs du paludisme piquaient à l'intérieur et à l'extérieur des chambres à Bougoudalé et seulement à l'intérieur à Soloba. Le taux d'agressivité des moustiques à l'intérieur et à l'extérieur était de 0,75 P/H/N (n=9) à Bougoudalé et de 0,08 (n=1) P/H/N à Soloba (Tableau 4).

Tableau 4 : Lieu de piqûre des populations anophéliennes dans les 2 villages

village		Bougoudalé (potentiel d'intervention)	Soloba (potentiel témoin)
Intérieur	#. <i>An. gambiae s.l</i>	4	1
	% <i>An. gambiae s.l</i>	44,4%	100.0%
	#. Piège / Nuit	6	6
	Taux d'agressivité/ Nuit(P/H/N)	0,66	0.1
Extérieur	#. <i>An gambiae s.l</i>	5	0
	% <i>An gambiae s.l</i>	55,6%	0
	#. Piège / Nuit	6	6
	Taux d'agressivité/ Nuit (P/H/N)	0,83	0
#Total <i>An. gambiae s.l</i> à l'intérieur et extérieur		9	1
Taux d'agressivité d'<i>An. gambiae s.l</i> à l'intérieur et extérieur		0,75	0,08

: Nombre, % : Pourcentage,

5.2.3. Taux d'infection

Le taux d'infection à *Plasmodium falciparum* chez le principal vecteur (*An. gambiae* s.l) du paludisme était de 9,% (n=6) à Bougoudalé (potentiel intervention). Aucun moustique infecté n'a été trouvé à Soloba (potentiel témoin), ce qui peut être dû au faible nombre de moustiques collectés au cours de cette période. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative ($p = 0,44$) entre le taux d'infection à Bougoudale et à Soloba (Tableau 5).

Le taux d'infection d'*An. funestus* était de zéro (0) dans les (2) deux villages.

Tableau 5 : Taux d'infection à *P. falciparum* (sporozoïte) par méthode de capture d'*An. gambiae* s.l

Village	Bougoudale (potentiel intervention)		Soloba (potentiel contrôle)	
	# Testés	# Sporozoïte (+) (%)	# Testés	# Sporozoïte (+) (%)
Pièges lumineux CDC	6	1 (16,6%)	1	0
Aspirateur	5	0	5	0
Total	11	1 (9,0%)	6	0

: Nombre et (+) : Sporozoïte positif

5.2.4. Taux d'inoculation entomologique

Le taux d'inoculation entomologique (TIE = piqûre infectée par nuit) du principal vecteur du paludisme *An. gambiae* s.l. était de 8 piqûres par nuit à Bougoudalé (potentiel intervention) mais nul à Soloba (potentiel témoin) en raison de l'absence de vecteurs infectés (Tableau 6).

Tableau 6 : Le taux d'inoculation entomologique par nuit

Village	Bougoudale (potentiel d'intervention)	Soloba (potentiel contrôle)
Taux de piqûre (capture de nuit)	0,50	0,08
Taux sporozoïtique	16,6	0
TIE de nuit	8,3	0

5.2.5. Origine du repas sanguin des moustiques

À Bougoudalé, 83,3% (n=5) des moustiques anophèles se nourrissaient préférentiellement sur des hôtes humains. En revanche, à Soloba, seuls 25%(n=1) des moustiques anophèles se nourrissaient d'hôtes humains et des bovins. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les 2 villages en termes d'origine de repas de sang ($p = 0,060$) (Tableau 7).

Tableau 7 : Origine du repas sanguin des moustiques

Village	Bougoudalé (potentiel intervention)	Soloba (potentiel contrôle)	Total
# Testés	6	4	10
# Humains positifs (%)	5 (83,33%)	1 (25%)	6 (60%)
# Bovins positifs (%)	0	0	0
# Mixte humain/bovin (%)	0	1 (25%)	1 (10%)
# Autres (%)	1 (16,66%)	2 (50%)	3 (30%)

: nombre

5.3. Sensibilité des vecteurs aux insecticides

La population des vecteurs du paludisme *An. gambiae* s.l était sensible au bendiocarbe (carbamate) et au pirimiphos-methyl (organophosphoré) à Bougoudalé et à Soloba (Tableau 8)

Tableau 8 : Sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides

Insecticide	Bougoudalé et Soloba		
	# moustiques testés	% Mortalité	Statut
Bendiocarbe	100	99.0	Sensible
Pirimiphos-methyl	100	99.0	

5.4. Les fréquences alléliques *Kdr* d'Afrique de l'Ouest et l'Est (*L1014S* et *1014F*)

La mutation *kdr* ouest-africain, qui confère la résistance aux pyréthroïdes et au DDT, était présent avec une fréquence très élevée à 82% (n=56). Cependant, la mutation *Kdr* de l'Afrique de l'Est était absente (Tableau 9).

Tableau 9 : Fréquence des génotypes de résistance (*kdr*) de l'Afrique de l'Ouest et *L1014S* et *1014F* de l'Afrique de l'Est

Village	# Testés	<i>An coluzzii</i>							
		<i>L1014S</i> géotypes			<i>f(kdr)</i>	<i>L1014F</i> géotypes			<i>f(kdr)</i>
		RR	RS	SS		RR	RS	SS	
Bougoudalé et Soloba	56	40	12	4	0,82	0	0	56	0

RR : résistant, RS : hybride, SS : sensible

6. DISCUSSION

La présente étude, est une évaluation des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de la sensibilité d'*An.gambiae* s.l au pyrimiphos méthyle et au bendiocarbe à Bougoudale et Soloba en prélude à la mise en œuvre de la PID. Elle s'est déroulée de Novembre à Décembre 2018 ne couvrant pas une période entière de transmission du paludisme au Mali d'où le faible nombre de moustique capturés.

6.1.Vecteurs du paludisme

An. gambiae s.l. était l'espèce la plus dominante 65,1% suivi d'*An. rufipes*. L'étude menée par KEITA, et al., 2014 à Kénioroba et Fourda au Mali a donné un résultat similaire avec une prédominance d'*An. gambiae* à 99% mais en terme de diversité nous avons obtenu plus d'espèces (*An. zeimanni*, *An. funestus*, et *An. pharoensis*).

L'identification des espèces par la PCR a donnée 65,1% *An. coluzzii* membre du complexe *An. gambiae* s.l. et 17,4% *An. lesoni* membre du complexe *An. funestus s.l.* SYLLA, 2015 à Sélingué au Mali a eu un résultat similaire avec une prédominance d'*An. coluzzii* à 95%

6.2.Paramètres entomologiques de la transmission

Les paramètres entomologiques ont été mesurés avec les moustiques issus de la capture du jour au prokopack et de la capture de nuit avec le piège lumineux CDC.

La densité d'*An. gambiae* était faible (0,25 et 0,20) dans les deux villages, ce qui pourrait s'expliquer par une diminution de la pluviométrie (en novembre) et des gîtes larvaires. Les moustiques piquaient à l'intérieur et l'extérieur à Bougoudalé et seulement l'intérieur à Soloba. Le taux de piqûre des vecteurs était de 0,75 piqûre/personne/nuit à Bougoudalé et 0,08 piqûre/personne/nuit à Soloba, CAMARA en 2010 dans le cercle de Barouéli a eu des chiffres similaire 0,85 piqûre/personne/nuit au mois de juin et nettement supérieur au mois de septembre 380,97 piqûre/personne/nuit au mois de septembre. Cette différence pourrait être due au nombre de moustique relativement faible dans notre étude et la période de l'étude novembre-décembre. Ces résultats montrent que certaines populations vectrices piquent plus dehors. Ce qui amènerait à penser à une transmission active dehors. Ceci est contraire à la croyance générale selon laquelle la majorité des piqûres se passe à l'intérieur des chambres. Il serait donc important de multiplier de telles études afin de disposer d'avantage d'évidences que dans notre étude. 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.

Le taux d'infection à *P. falciparum* était de 9% à Bougoudalé par contre aucun moustique infecté n'a été trouvé à Soloba ce qui peut être dû au faible nombre de moustiques collectés au cours de cette période. Kaly, 2011 sur long du fleuve Niger au Mali a obtenu un chiffre comparable 6,35% au mois de novembre.

Le taux d'inoculation entomologique (TIE) était de 8,3 piqures infectantes/personne/nuit à Bougoudale et de 0 à Soloba. Ce taux nul est dû à l'absence des vecteurs infectés. SANGARE et al., (2009) à NANORO au Burkina Faso ont eu un résultat de 8,64 piqures infectantes/personne/nuit à Poessi et nul dans les villages témoins.

À Bougoudale, 83,3% des moustiques anophèles se nourrissaient préférentiellement sur des hôtes humains. En revanche, à Soloba, 25% des moustiques *anopheles* se nourrissaient d'hôtes humains et de bovins. Akre Maurice Adja et al., en 2015 dans la ville d'Adzope en Côte d'Ivoire ont eu résultat légèrement supérieur sur hôtes humains 92,3%.

6.3. Sensibilités des vecteurs aux insecticides

Le taux de mortalité d'*An. gambiae* était de 99% avec le bendiocarbe et le pirimiphos-methyl. DICKO, et al., (2011) au Mali ont eu un résultat similaire avec le bendiocarbe dans les localités de Yanfolila, Gao, Bougouni, Djenné et Tombouctou.

Ces résultats prouvent que SMK a le choix entre ces deux insecticides pour la PID car ils ont un taux de mortalité >80%

Les résultats de la présente étude montrent un aperçu entomologique en ce qui concerne les indicateurs entomologiques de la transmission du paludisme à Bougoudalé et à Soloba. L'étude s'est étendue sur deux villages ; la variation spatiale serait peut-être beaucoup plus visible si plusieurs villages étaient inclus. Malgré ces insuffisances, cette étude reste une base scientifique pour orienter la SMK dans le choix des stratégies de LAV à Komana et environ.

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7.1. Conclusion

- Il ressort de cette étude que les espèces vectrices rencontrées ont été *An. gambiae s. l.*, *An. rufipes*, *An. zeimanni*, *An. funestus s.l.* et *An. pharoensis*. Le complexe *An. gambiae s. l.* était composée d'*An. coluzzii* et le complexe *An. funestus s.l.* était composée d'*An. lesoni*
- Les paramètres entomologiques de la transmission serviront à évaluer l'impact de la pulvérisation intra domiciliaire sur la transmission du paludisme.
- *Anopheles gambiae s. l.* était sensible à 99 pour cent (99%) au bendiocarbe et au pyrimiphos méthyl.

7.2. Recommandation

A la lumière des résultats de cette étude nous recommandons :

- ✓ A la société des mines de Komana (SMK)
 - Utiliser le bendiocarbe ou le pyrimiphos méthyle dans la PID à Komana Camp et à Bougoudalé,
 - Évaluer la qualité des opérations de PID,
 - Déterminer la vie résiduelle de l'insecticide qui sera utilisé pour la PID,
 - Faire le suivi et l'évaluation entomologique de la PID,
 - Surveiller la sensibilité des vecteurs du paludisme aux insecticides.

- ✓ Aux chercheurs

Assister SMK dans le suivi et l'évaluation entomologique de la PID

- ✓ Au programme national de lutte contre le paludisme (PNLP)

Accompagner SMK et le LBMA dans la mise en œuvre de la PID

- ✓ Aux populations des sites d'étude

De bien coopérer pour les activités de recherche.

8. BIBLIOGRAPHIE

ADAM.J.P., BINSON.G., BAILLY.H., EYRAUD.M., AND HAMON.J. 1958.

Presence of a gene of resistance to dieldrin in Anopheles gambiae Giles, in the Lower Ivory Coast (French East Afrika). Bull Soc Pathol Exot 51 : 326-329.

AKOGBETO.M., AND YAKOUBOU.S., 1999.

Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthrinoides utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. Bull Soc Pathol Exot 92 : 123-130

AMENYA.DA., KOEKEMOER.LL., VAUGHAN.A., MORGAN.JC., BROOKE.BD., AND E. A. HUNT.RH., 2005.

Isolation and sequence analysis of P450 genes from a pyrethrinoid resistant colony of the major malaria vector Anopheles funestus. DNS Seq 2005 16 : 435-445.

BROGDON WG, MCALLISTER JC. 1998.

Insecticide resistance and vector control. Emerg Infect Dis, 4:605-613.

BROOKE B.D., KLOKE G., HUNT R.H., KOEKERMOR L.L., TEMU E.A., TAYLOR ME. AND AL., 2001.

Bioassay and biochemical analyses of insecticide resistance in southern Africa Anopheles funestus (Dipteria : Culcidae). Bull Entomol Res : 265-273.

CASIMIRO.S., COLEMAN.M., HEMINGWAY.J., AND SHARP.B., 2006.

Insecticide resistance in Anopheles arabiensis and Anopheles gambiae from Mozambique. J. Med Entomol 43 : 276-282.

CASIMIRO.SL., HEMINGWAY.J., SHARP.BL., AND COLEMAN.M., 2007.

Monitoring the operational impact of insecticide usage for malaria control on Anopheles funestus from Mozambique. Malar J 2003 ; 6 : 142.

CHANDRE, F., DARRIET, F., MANGUI, S., BRENGUES, S., CARNEVALE, P., ET AL., 1999.

Pyrethroid cross resistance spectrum among population of Anopheles gambiae s.s from Côte d'Ivoire. J Am Mosq Ass. 15 : 5-11.

CHOUAIBOU.M., ETANG.J., BRÉVAULT.T., Nwane.P., HINZOUMBÉ.CK., AND E. A. MIMPFOUNDI.R., 2008.

Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector Anopheles gambiae s.l. from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameroon. Trop Med Int Health. 13 : 476-486.

CISSÉ M BM, KEITA C, DICKO A, DENGELA D, COLEMAN J, LUCAS B, ET AL, 2015.

Characterizing the insecticide resistance of Anopheles gambiae in Mali. Malar J 14:327.

COETZEE M., AND FONTENILLE D., 2004

Advances in the study of Anopheles funestus, a major vector in Africa. Insect biochem Mol boil 34 (7)

COLUZZI M., PETRARCA V., AND DI DECO M A., 2003.

Chromosomal inversion intergradations and incipient speciation in Anopheles gambiae Boll Zool p. 52.

COLUZZI. M., SABATINI.A., PETRARCA.V., AND DI DECO.M.A., 1979.

Chromosomal differentiation and adaptation to environments in the Anopheles gambiae complex. Trans R Soc Trop Med Hyg p. 73.

CONSTANTINI. C., SAGNON.N., ILBONDO-SANOGO.E., COLUZZI.M., AND BOCCOLINI.D., 1999.

Chromosomal and bionomic heterogeneties suggest incipient speciation in Anopheles funestus from Burkina Faso. Parasitologia 41 : 595 : 199.

COZ.J., DAVIDSON.G., CHAUVET.G., AND HAMON.J. 1968.

La résistance des Anophèles aux insecticides en Afrique tropicale et Madagascar. Cahier ORSTOM Serie Ent Med Parasitol 6 : 207-210.

COETZEE, MAUREEN, RICHARD H. HUNT, RICHARD WILKERSON, ALESSANDRA DELLA TORRE, MAMADOU B. COULIBALY, ET NORA J. BESANSKY. 2013.

Anopheles Coluzzii and Anopheles Amharicus, New Members of the Anopheles Gambiae Complex. Zootaxa 3619 (3) : 246-74. doi:10.11646/zootaxa.3619.3.2.

DARRIET FREDERIC, 2007.

Moustiquaires imprégnées et résistance des moustiques aux insecticides. IRD Editions p. 13-15

DARRIET FREDERIC, 2014.

Des moustiques et des hommes, Chronique d'une pullulation annoncée. IRD Editions p. 72

DIAGNE N, FONTENILLE D, KONATE L, FAYE O, LAMAZANA MT ET AL., 1994.

Les anophèles du Sénégal. Liste commentée et illustrée. Bull Soc PatholExot, 87, 267-277.

ELISSA.N., MOUCHET.J., RIVIERE.F., MEUNIER.JY., AND YAO.K., 1993.

Resistance of Anophèles gambiae to pyrethroids in Cote d'Ivoire. Annales de la société belge de Médecine tropicale 73 (4) : 291-294

ELISSA.N., MOUCHET.J., RIVIERE.F., MEUNIER.JY., AND YAO.K. 1994.

Sensibilité d'Anopheles gambiae aux insecticides en Côte d'Ivoire. Santé 4 : 95-99.

ETANG.J., CHOUAIBOU.M., TOTO.JC., FAYE.O., MANGA.L., AND E. A. SAMÈ-EKOBO.A. 2007.

A preliminary test of the protective efficacy of permethrin-treated bed nets in an area of *Anopheles gambiae* metabolic resistance to pyrethroids in north Cameroon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101 : 881-884

FAVIA G., LAFRANCOTTI A., SPANOS L., SIDEN-KIAMOS I., AND LOUIS C., 2001.

Molecular characterization of ribosomal forms DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of Anopheles gambiae s.s. *Insect Mol Biol* 10(1) : 19-23.

FANELLO F.C., SANTOLAMAZZA, AND D. T. A., 2002.

Simultaneous identification of species and molecular forms of Anopheles gambiae complex by PCR-RFLP. *Med Vet Entomol* 16(4) : p. 461-464.

FONTENILLE.D., COHUTEL.A.P.H., AWOONO-AMBENE., ANTONIO-NKONDJIO.C., WONDJI.C., KENGNE.P., AND AL., 2003.

Systématique et biologie des Anopheles vecteurs de Plasmodium en Afrique, Données récentes. *Med Trop* p. 63.

HAMON.J., AND GARRET-JONES.C., 1963.

La résistance aux insecticides chez les vecteurs majeurs du paludisme et son importance opérationnelle. *Bull World Health Organ* 28 : 1-24.

HARGREAVES.K., KOEKEMOER.LL., BROOKE.BD., HUNT.RH., MTHEMBU.J., AND COETZEE.M., 2000.

Anopheles funestus resistant to pyrethroid insecticides in South Africa. *Med Vet Entomol* 14 : 181-189.

HAROUNA M SOUMARÉ, 2010.

Evaluation de l'efficacité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra-domiciliaire dans le cercle de Koulikoro et de Bla au Mali, Thèse pharmacie, p. 22.

HEMINGWAY.J., 1983.

Biochemical studies on malathion resistance in Anopheles arabiensis from Sudan. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 77 : 477-480

HUNT.RH., COETZEE.M., AND FETTNE.M., 1998.

The Anopheles gambiae complex : a new species from Ethiopia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* p.92.

INSTITUT PASTEUR, janvier 2013.

Information et traitement du paludisme, centre médical > fiches maladies > paludisme.

JACOB WILLIAMS ET JOAO PINTO, 2012.

Manuel de formation à l'entomologie du paludisme. RTI International p.8

JEAN-MARC HOUGARD, 2008.

Les moustiquaires imprégnées. IRD

JOHN W. HOCK, 2012 a.

Instructions_1419 improved prokopack aspirator.doc. www.johnwhock.com

JOHN W. HOCK, 2012 b.

Instr_512_cdc miniature. doc. www.johnwhock.com

MADINA KONATE, DIAHARA TRAORE, DRISSA COULIBALY, OGOBARA DOUMBO ET COL, 2018.

Profil de l'épidémiologie et de la lutte contre le paludisme au Mali, p. 93-94, 95.

MARTINEZ-TORRES.D., CHANDRE.F., WILLIAMSON.MS., DARRIET.F., BERGÉ.JB., AND E. A. DEVONSHIRE.AL., 1998.

Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major vector Anopheles gambiae s.s. Insect Mol Biol 7 : 179-184.

N'GUESSAN.R., DARRIET.F., GUILLET.P., CARNEVALE.P., TRAORÉ-LAMIZANA.M., AND E. A. CORBEL.V., 2003.

Resistance to carbosulfan in Anopheles gambiae from Ivory Coast, based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase. Med Vet Entomol 17 : 19-25.

OGOBARA DOUMBO, IBRAHIMA SOCÉ FALL, DOUMBO S. NIARÉ., 2015.

Paludisme : espoir d'un contrôle efficace en Afrique, vers l'élimination du paludisme. EM-Consulte.

OGOBARA DOUMBO DIAKALIA KONÉ, ABDOUL KARIM DOUMBIA, KASSOUM KAYENTAO, , JULES MIHIGO, ABOUBACAR SADOU, LIA FLOREY, ERIN ECKERT, 2015.

Evaluation de l'Impact des Interventions de Lutte Contre le Paludisme sur la Mortalité Toutes Causes Confondues chez les Enfants de moins de Cinq Ans au Mali de 2000 à 2012, p. 33.

OMS, 2014.

Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle. Guide du pratiquant p. 71.

OMS, 2018.

Rapport 2018 sur le paludisme dans le monde.

OMS, 2019.

Rapport 2019 sur le paludisme dans le monde.

OMS, 1999.

La lutte antivectorielle - Méthodes à usage individuel et communautaire -
Sous la direction de Jan A. Rozendaal. p. 7

PROGRAMME NATIONAL LUTTE CONTRE PALUDISME, 2018.

Canevas de synthèse des rapports d'activités 2018 et de programmation 2020 pour les journées d'évaluation des structures centrales, p. 9.

RAY WILSON 2014.

Arthropod Vectors of Human Diseases. Anopheline mosquitoes anopheles gambiae & anopheles funestus.

http://www.raywilsonbirdphotography.co.uk/0000120New20website/Galleries/Invertebrates/000_invert_images/vector_images/JS8Q1287-Edit.jpg

SANTOLAMAZZA F, MANCINI E, SIMARD F, QI Y, TU Z, DELLA TORRE A, 2008.

Insertion polymorphisms of SINE200 retrotransposons within speciation islands of Anopheles gambiae molecular forms. Malar J, 7:163.

SINKA ET AL. 2012.

A global map of dominant malaria vectors. <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1756-3305-5-69.pdf>.

SNOW R.W., GUERRA C. A., NOOR A.M., MYINT H., AND HAY S., 2005.

The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria. Nature. p.214-217.

STEPHEN C. SMITH, UDAY B. JOSHI, MARK GRABOWSKY, ET COL., 2007

Evaluation of Bednets After 38 Months of Household Use in Northwest Ghana Am. J. Trop. Med. Hyg., 77 pp. 243–248.

TOURÉ, 1979.

Bio-écologie des anophèles (DIPTERA-CULICIDEA) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali ; Incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de bancroft (Village de Banambani, arrondissement de Kati). Thèse de 3^e cycle Entomologie : Bamako, Mali, Centre Pédagogique Supérieur de Bamako.

TOURÉ, YEYA.TIÉMOKO, 1982.

Etude de la sensibilité d'Anopheles funestus et d'Anopheles gambiae sensu lato aux insecticides dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali. Cahiers ORSTOM Serie Ent Med Parasitol 20 : 125-131.

TOURÉ Y T., PETRARCA V., TRAORÉ S F., COULIBALY A., MAIGA H.M., SANKARE O., SOW M., DI DECO M A., AND COLUZZI M.,1998.

The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the Anopheles gambiae complex in Mali, west Africa. Parasitologia p. 40 (4).

VULULE.JM., BEACH.RF., ATIELI.FK., MCALLISTER.JC., BROGDON.WG., AND E. A. ROBERTS.JM., 1999.

Elevated oxidase and esterase levels associated with permethrin tolerance in Anopheles gambiae from Kenyan villages using permethrin-impregnated nets. Med Vet Entomol 13 : 239-324.

WEILL.M., MALCOLM.C., CHANDRE.F., MOGENSEN.K., BERTHOMIEU.A., AND E. A. MARQUINE.M., 2004.

The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. Insect Mol Biol 13 : 1-7.

WILKES. TJ., MATOLA. YG., AND CHARLOWOOD. JD., 1996.

Anopheles rivulorum, vector of human malaria in Afrika. Vet Entomol p. 10 : 108

YAWSON.AE., MCCALL.PJ., WILSON., MD., AND DONNELLY.MJ., 2004.

Species abundance and insecticide resistance of Anopheles gambiae in selected areas of Ghana and Burkina Faso. Med Vet Entomol 18 : 372-377.

9. ANNEXES

Annexe 1 : Protocole d'extraction d'ADN au CTAB 2% (Myriam et Cécile, avril 2003)

1. Broyer chaque moustique dans 200 µL de CTAB 2% ;
2. Mettre au bain marie 65°C pendant 5 minutes ;
3. Ajouter 200 µL de chloroforme – Mélanger par inversion ;
4. Centrifuger 5 minutes à 12000 rpm, à température ambiante ;
5. Prélever la phase supérieure et la mettre dans un autre tube ;
6. Ajouter 200 µL d'Isopropanol sur ce surnageant – Bien mélanger par inversion ;
7. Centrifuger 15 minutes à 12000 rpm à température ambiante ;
8. Vider l'Isopropanol, bien égoutter et ajouter 200 µL d'Ethanol 70% ;
9. Centrifuger 5 minutes, 12000, température ambiante ;
10. Vider l'Ethanol et laisser au moins 20mn à température ambiante ;
11. Sécher le culot 10 minutes environ au speed-vac ;
12. Reprendre dans 20 µL d'H₂O – ne pas vortexer – Laisser suspendre sur la paillasse toute la nuit (ou une ½ journée).
13. Conserver l'ADN à -20°C pour les analyses PCR.

Réactifs	Volume	Concentration finale
1 M Tris HCl Ph 8,0	100 mL	100 mM
0,5 M EDTA	20 mL	10 mM
NaCl	81,8 g	1,4 M
CTAB*	20 g	2%
Eau distillée	QSP 1 L	

*Cetyltrimethyl ammonium bromide

Mélanger sous agitateur magnétique. Conserver à température ambiante.

Annexe 2 : Protocole PCR formes moléculaires : détection du gène SINE 200X 6.1 locus

Référence : Santolamazza et *al.*, 2008

Amorces :

S200X 6.1F: TCG-CCT-TAG-ACC-TTG-CGT-TA;

S200X 6.1R: CGC-TTC-AAG-AAT-TCG-AGA-TAC

Mélange réactionnel pour l'amplification (Master mix) pour un volume final de 15 µL

Réactif	Concentration finale	Pour une réaction à 25µl
H2O		9,85µl
Buffer (5X)	1X	5µl
MgCl ₂ (25mM)	1 mM	1µl
dNTPs (10mM)	0,8 mM	2µl
UN (50nM)	1 nM	0,5µl
AG (50nM)	1 nM	0,5µl
AR (50nM)	1 nM	0,5µl
AM (50nM)	1 nM	0,5µl
Taq (5U/µl)	0,03U	0,15 µl
ADN (1/15) (5-90 ng)	1-18 ng	5µl

Amplification : 10' [30°, 30°, 60°] 35c @ 54°C

Taille des bandes attendues

An. coluzzii : 479bp (présence du gène Sine 200x 6.1)

An. gambiae, *An. melas*, *An. quadriannulatus* : 249bp (absence du gène Sine 200x 6.1)

An. arabiensis : 223bp (absence du gène Sine 200x 6.1)

Annexe 3 : Protocole PCR détection des gènes de résistance : mutation *kdr* de l'Afrique Ouest (Martinez-Torres D et al., 1998)

Polymorphisme dans un gène codant pour un canal à Sodium, associé à la résistance au DDT et aux pyréthrinoïdes.

Référence : Martinez-Torres D et al., 1998

Amorces :

- D1 ATAGATTCCCCGACCATG
- D2 AGACAAGGATGATGAACC
- D3 AATTTGCATTACTTACGACA
- D4 CTGTAGTGATAGGAAATTTA

Mélange réactionnel pour l'amplification (Master mix) pour un volume final de 15 µL

Réactif	Concentration finale	Pour une réaction à 25µl
H2O		8.7µl
Buffer (10X)	1X	2.5µl
MgCl2 (25mM)	1.5 mM	1.5µl
dNTPs (10mM)	0,8 mM	1µl
D1 (10uM)	0.4 nM	1µl
D2 (10uM)	0.4 nM	1µl
D3 (10uM)	0.4 nM	1µl
D4 (10uM)	0.4 nM	1µl
Taq (5U/µl)	0,03U	0,3 µl
ADN (1/15) (5-90 ng)	1-18 ng	7µl

Amplification :

3' [30°, 30°, 10°] 35c @ 55°C

Taille attendue

D1/D2 : 293 bp

D1/D3 : 195 bp Résistant

D2/D4 : 137 bp Sensible

Annexe 4 : ELISA REPAS DE SANG

Référence : Technique Fontenille D., d'après Beier JC et *al.* (et Sarthou pour la coloration) Février 2002, LIN

1. Préparer le Tampon "Repas de sang" (à garder à + 4°C, 1 à 2 semaines)

Pour 1/2 litre :

- 2,5 g de caséine dans 50 mL de NaOH 0,1N;
- faire bouillir jusqu'à totale dissolution ;
- ajouter 450 mL de PBS ;
- ajouter 0,025 % Tween 20 (soit 125 µL/1/2 L) ;
- ajouter 0,05 g Thiomerosal ;

- ajouter 0,01 g Phénol rouge ;
- Agiter 2 h.

2. Préparer le Tampon Citrate pH4 :

Pour 1 litre :

- Acide citrique, 1 H₂O 11,77 g
- Hydroxyde de Sodium 4,48 g
- Dissoudre la soude dans 200 mL d'eau bidistillée, puis l'acide citrique dans cette solution.
- Ajouter 400 ml d'eau bidistillée.
- Ajuster le pH à 4 avec de l'acide Chlorhydrique 1N.
- Compléter à 1 L avec de l'eau bidistillée.

3. Avec SPOTS (Confetti sur papier filtre)

- Découper le spot, | Avec ABDOMENS COUPES
- le mettre environ dans 0,8 mL de PBS | Broyer dans 250 µL de PBS
- (selon la quantité probable de sang) | ajouter environ 750 µL de PBS
- Vortexer 1 ou 2 fois |
- Laisser au moins 1 h |

4. Préparer les témoins positifs : sang dilué au 1/100 en moyenne 10 µL de sérum d'espèce dans 1 mL de PBS (homme (1/100), bœuf (1/100), mouton (1/30), âne (1/100), porc (1/100), chien (1/100), volaille (1/200) ;

5. Sensibiliser les plaques, mettre 50 µL de solution de sang à tester par puits (un moustique par colonne) ;

6. Incubation 3 h à la température de la pièce ou la nuit à + 4°C ;

7. Préparer les anticorps spécifiques d'espèces marqués à la peroxydase : reconstituer les IgG marquées selon la notice. Garder au congélateur.

Pour une plaque il faut :

50 µL X 12 = 600 µL (+50 µL) = 650 µL de solution de chaque IgG marquées Dilutions à faire (dilution à vérifier par un damier, fonction de la marque) :

Homme : 1/2000 1 µL IgG + 2 ml Tampon pour 3 plaques

Bœuf : 1/1000 2 µL IgG + 2 ml Tampon

Mouton : 1/500 4 µL IgG + 2 ml Tampon

Ane : 1/1000 2 µL IgG + 2 ml Tampon

Porc : 1/1000 2 µL IgG + 2 ml Tampon

Chien : 1/1000 2 µL IgG + 2 ml Tampon

Volaille : 1/2000 1 µL IgG + 2 ml Tampon

8. Ajouter dans chaque tube d'IgG marquées les sérums hétérologues au 1/1000ème. Exemple: Tube anti homme : aux AC marqués anti-homme dans 4 mL tampon → ajouter 4µL de sérum de bœuf + 4µL de sérum de mouton + 4µL de sérum de âne + 4µL de sérum de porc + 4µL de sérum de chien + 4µL de sérum de volaille (tous les autres sérum sauf Homme).

9. Laver 2 fois au PBS-Tween

10. Distribuer 50 µL par puits de solution d'IgG marquées. Mettre une IgG par rangée ;

11. Incubation 1 h à RT sur la paillasse ;

12. Vider la plaque. Laver 4 fois au PBS/TWEEN 20 ;

13. 10 minutes avant la fin de l'incubation, préparer le substrat de la peroxydase (selon Lhuillier, Sarthou et *al*) ;

Pour 3 plaques :

- 5 mg d'Ortho-tolidine dans 0,25 ml de N,N-diméthyl formamide,

- 30 mL de Tampon citrate

- 12 µL de H₂O₂ à 10% (ou 4 µL à 30%).

14. Distribuer 100µL de substrat par cupule ;

15. Incubation à l'obscurité, pendant 30 minutes et apparition de la coloration bleue montre la présence de l'antigène recherché.

Annexe 5 : Détection du Circumsporozoite protéine de Plasmodium falciparum chez le moustique pour déterminer le taux d'infection.

Reference

Beier JC Vector Incrimination and Entomological Inoculation Rates. 2002. From Methods in Molecular Medicine, Vol. 72: Malaria Methods and Protocols Edited by : Denise L. Doolan, Humana Press, Inc., Totowa, NJ

Matériels, instruments et équipements :

- Pillons (Fisher Sc. Cat# K749510-1501)
- Pipette Multi Channel (Fisher Sc. Cat# 21-377-246)
- Anticorps pour les sporozoïtes Capture Mab et conjugué monoclonal (CDC/KPL Cat# Pf-CAP)

- Pf peroxidase Mab (CDC/kPL, Cat# Pf-HRP)
- Peroxydase substrat
- Contrôle positive pour sporozoïtes
- Phosphate Buffered saline (PBS)
- PBS-Tween 20, solution de lavage de l'ELISA:
- Boiled casein blocking buffer (BB) pour Elisa
- Blocking buffer – Igepal (BB-Igepal) solution de broyage.

Procédure :

1. Placer la tête/thorax de chaque moustique dans des tubes numérotés 1.5 ml eppendorff et broyer dans 50 µL de la solution de broyage BB : Igepal (5 µL BB/100 ml de BB).
2. Rincer les pillons avec 2 x 75 µL volume de BB, garder la solution de rinçage dans le tube (Volume totale=200 µL)
3. Ajouter 50 µL de Capture Mab solution dans chaque puit de la plaque Elisa. Incuber pendant 30 minutes à la température ambiante.
4. Aspirer la solution de Capture Mab dans les puits et ajouter 200 µL de BB (Blocking Buffer). Incuber pendant 1 heure à la température ambiante (ou garder à 4°C pendant 2-3 semaines)
5. Aspirer le contenu des puits et ajouter 50 µL du broyat de moustique dans chaque puit en tenant compte des numeros. Ajouter les contrôles positifs et négatifs. Incuber pendant 2 heures à la température ambiante.
6. Aspirer le contenu des puits. Laver 2 fois les puits avec 200 µL de PBS-Tween20.
7. Mélanger la solution de Mab-peroxydase conjugué dans le Blocking Buffer : voir annexe pour dilution. Ajouter 50 µL de conjugué par puit. Incuber pendant 1 heure à la température ambiante.
8. Aspirer la solution de Mab-peroxydase dans les puits. Laver 3 fois avec la solution de lavage PBS-Tween20.
9. Ajouter 100µL de solution ABTS dans chaque puits. Incuber dans le noir pendant 30 minutes à la température ambiante. La couleur verte indique les puits positifs. Mélanger le substrat (ABTS et peroxyde d'hydrogène 1:1) 1 heure avant utilisation. Couvrir avec du papier aluminium pour garder la plaque dans le noir.

NB : vérifier l'activité de l'enzyme par mélanger 5 µL du conjugué dans 100 µL de substrat. Il devrait y avoir un rapide changement de couleur dans 1-2 minutes indiquant que l'enzyme peroxydase et le substrat sont fonctionnel.

Préparation des solutions :

1. Blocking Buffer : Suspendre 5.0 g de caséine dans 100 ml de 0.1 N d'hydroxyde de sodium, porter la solution à ébullition et mixer avec plaque chauffante. Après dissolution totale de la caséine, ajouter doucement 900 ml de PBS, Laisser refroidir et ajuster le pH à 7.4 avec l'acide chlorhydrique (HCl). Ajouter 0.1 g thimerosal et 0.02 g de Phénol rouge. Bien mélanger avec agitateur magnétique et garder dans le réfrigérateur. Durée de vie : 7 à 10 jours.
2. Solution de broyage (BB-Igepal) : Ajouter 5 µL de Igepal dans 1 ml de Blocking Buffer (BB). Bien mélanger et garder à 4°C. Durée de vie 1 semaine.
3. Solution de lavage (PBS-Tw20) 0.05% : Ajouter 500 µL de Tween-20 dans un litre de PBS. Bien mélanger et garder à 4°C. Durée de vie 2 semaines.
4. Solution de révélation : Substrat solution, mélanger ABTS (Solution A) et peroxyde d'hydrogène (solution B) rapport 1:1 immédiatement avant usage. Ajouter 100 µL dans chaque puit.

Préparation des solutions d'anticorps :

Solution Pf Capture mab : 30 µL du stock dans 5 ml de PBS

Solution Pf Peroxydase : 10 µL du stock dans 5 ml de BB.

FICHE SIGNALITIQUE



Nom : DIALLO
Bamako

Prénom : Amadou

Email : dialloah13@gmail.com

Année universitaire : 2019-2020

Ville de soutenance :

Section : Pharmacie

Nationalité : Malienne

Contact : 00223 76 97 61

86

Titre de thèse : Etude entomologique de base pour la mise en œuvre de la pulvérisation intra domiciliaire et la lutte contre le paludisme à Komana dans le district sanitaire de Yanfolila au Mali.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie et de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie.

Secteur d'Intérêt : Entomologie médicale, Biologie moléculaire et Santé publique

RESUME

La Société des Mines de Komana (SMK) dans le cercle de Yanfolila dans la région de Sikasso a mis en œuvre un programme de prévention du paludisme en utilisant la pulvérisation intra domiciliaire (PID) en 2018 selon les recommandations du Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme du Mali dans son camp et dans six villages au autour du camp. Pour assurer une mise en œuvre effective et efficace de la PID, SMK, le PNLP et ses partenaires ont sollicité le soutien du laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) pour étudier les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme avant la mise en œuvre du programme du PID à Komana.

Cette étude a été réalisée de novembre à décembre 2018 dans les aires de santé de Fougatié (district sanitaire de Yanfolila) de la région de Sikasso au sud du Mali. Des séances de capture des moustiques ont été réalisées avec des aspirateurs de type prokopack et les pièges lumineux de type CDC pour examiner la composition, la densité et le comportement des moustiques ; estimer le taux d'infection, la longévité et déterminer le niveau de sensibilité aux insecticides (Test de bio essai avec les cônes OMS) des populations d'*Anopheles gambiae s.l.* vectrices du paludisme.

Six (06) différentes espèces d'anophèles ont été identifiées. *An. coluzzii* (membre du complexe *Gambiae*) était l'espèce la plus prédominante avec 65,1%, suivi d'*An. lesoni* (membre du complexe *Funestus* complexe) avec 17,4%. La densité du principal vecteur de paludisme *An. gambiae s.l.* au repos à l'intérieur des chambres était de 0,25 moustiques / chambre / jour à Bougoudalé et 0,20 moustiques / chambre / jour à Soloba. Le taux d'agressivité à l'intérieur et à l'extérieur par nuit dans les deux sites était inférieur à 1 piqûre par nuit et par personne. Le taux d'infection *An. gambiae s.l.* par *Plasmodium falciparum* était de 9,0% à Bougoudalé et le taux d'inoculation entomologique (piqûre infectante par nuit) était de 8 piqûres infectante par nuit à Bougoudalé. Par contre, aucun anophèle infecté n'a été retrouvé à Soloba. Le taux de parité à Bougoudalé et à Soloba était de 50%. En termes de repas sanguin, 83,3% des moustiques anophèles prenaient préférentiellement le repas sanguin sur l'hôte humain à Bougoudalé, et seulement 25% prenaient le repas de sang à la fois sur les bovins et les humains à Soloba. La fréquence du gène *kdr* d'Afrique de l'Ouest qui confère la résistance au pyréthroides et DDT était de 82%. La population vectorielle du paludisme était

sensible (taux de mortalité > 97%) au bendiocarbe (Carbamate) et pyrimiphos-méthyl (Organophosphoré).

Mots clés : Paludisme, insecticide, pulvérisation intra domiciliaire.

IDENTIFICATION SHEET



Last Name : DIALLO

City of defense : Bamako

First Name : Amadou

Section : Pharmacy

Email : dialloah13@gmail.com

Nationality : Malian

Academic Year : 2019-2020

N° Phone : 00223 76 97 61

86

Title of the thesis : Entomological baseline study for the implementation of Indoor Residual Spraying to control malaria in Komana in the health District of Yanfolila, Mali

Place of deposit : Library of Faculty of Pharmacy and Faculty of Medicine and Odontostomatology.

Sectors of interest : Medical Entomology, Molecular Biology and Public Health.

ABSTRACT

SMK (Société de Mine de Komana) is planning to implement in 2019 the Indoor Residual Spraying (IRS) program in his camp and surrounding villages to reduce malaria transmission. Before the implementation of IRS, SMK in collaboration with NMCP (Mali) and stakeholders requested to LBMA (Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée) to assess malaria entomological transmission parameters.

This study was conducted from November 2018 to February 2019 in SMK camp, the village of Bougoudale (Potential intervention site) and Soloba (Potential control site) in the Sikasso region the south part of Mali. The day and night mosquito captures were conducted with aspirator and CDC light trap to examine malaria vectors species compositions, to estimate the malaria vector indoor resting densities, evaluate the biting times, the locations and to estimate malaria vector infection and longevity rate. A bioassay was conducted with the CDC bottle test to determine malaria vector susceptibility to insecticides.

Six (06) different anopheline species were identified. *An. coluzzii* (member of Gambiae complex) was the predominant species with 65.1% followed by *An. lesoni* (member of Funestus complex) with 17.4%. The indoor resting density of main malaria vector *An. gambiae* s.l was 0.25 mosquito/ room/ day in Bougoudale and 0.20 mosquito/ room/ day in Soloba. The indoor and outdoor human biting rates per night were low in both sites < 1 bite per night. The infectivity of malaria vector *An. gambiae* s.l. with *Plasmodium falciparum* was examined. The infection rate was 9.0% in Bougoudale and the Entomological Inoculation Rate (infected bite per night) was 8 bites per night in Bougoudale. In contrast, there was no infected anopheline mosquitoes in Soloba. Malaria vector longevity was 50% in Bougoudale and 100% in Soloba. In terms of feeding habit, 83.3% of anopheline mosquitoes fed preferentially on human hosts in Bougoudale, and only 25% fed on both human and bovine hosts in Soloba. The West African *kdr* the gene that confers resistance to pyrethroids and DDT was presented at higher frequency 82%. The malaria vector populations in Bougoudale and Soloba were susceptible (Mortality rate >97%) to bendiocarb (Carbamate) and pyrimiphos methyl (Organophosphate).

Key words: Malaria, insecticide, Indoor Residual Spraying.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

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

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

Je le jure !