

MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE



REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But Une Foi



UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie



Année Universitaire 2005-2006

Thèse N° / ___ / M

Distribution spatio-temporelle des gîtes larvaires et caractérisation moléculaire du complexe *An. gambiae s.l* dans le village de Bancoumana, Mali

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 17 juin 2006
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
de l'Université de Bamako

Par Monsieur **Mamoudou Maïga**

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

Jury:

Président : Professeur Abdourahamane Sidèye Maïga

Membres : Professeur Amagana Dolo
Docteur Seydou Doumbia

Directeur de thèse : Professeur Sekou Fantamady Traoré
Co-directeur de thèse : Docteur Guimogo Dolo

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Ma mère **Feu Dikel Maïga**, mère de famille infatigable, en m'amenant à accepter et à aimer les autres avec leurs différences, tu as cultivé en moi avant ta mort, les vertus de la tolérance et de l'amour du prochain sur fond de tendresse et d'affectivité.

Puisse ce travail, te fasse plaisir de ta dernière demeure. Dors en paix, Qu'Allah t'accorde comme tous les bons musulmans sa miséricorde, Amen!

Ma marâtre, **Feu Coumba Maïga**, mère de famille exemplaire, tu as été pour moi plus qu'une mère. Tes conseils ne m'ont jamais fait défaut pour me mettre sur la piste de la réussite. Ce travail n'est que le votre. J'aurai souhaité votre présence ce jour, mais hélas!

Trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Dors en paix et qu'Allah t'accorde comme tous les bons musulmans sa grâce et sa miséricorde, amen!

Mon père **Hamadoun Maïga**, chef de famille irréprochable, ce travail est le couronnement de tous les sacrifices que tu as consentis. Ton dévouement inlassable, ta bonté dans la rigueur, ta générosité et ton sens d'écoute ont fait de moi, ce que je suis aujourd'hui.

Trouve ici l'expression de mon amour filial et ma profonde reconnaissance.

Que le Tout Puissant nous accorde encore santé et longue vie, amen!

REMERCIEMENTS

A Dieu, Le Tout Puissant, Le Clément, L'Omniscient, L'Omnipotent, Le Miséricordieux, Le Tout Miséricordieux pour m'avoir guider, et donner la force et le courage de réaliser ce modeste travail.

Il me tient aussi à coeur de remercier très sincèrement toutes les personnes de bonne volonté qui de loin ou de près ont contribué tant soit peu, à la réalisation de ce travail. Cependant je ne saurai jamais énumérer de façon exhaustive les parents, amis, collaborateurs et maîtres qui m'ont apporté leurs soutiens moraux, matériels et scientifiques tout au long de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude !

Mes remerciements vont à toute l'équipe du MRTC/ DEAP/ FMPOS et notamment:

- Ibrahima Baber, assistant de recherche.

Le temps passé à vos cotés m'a permis d'assimiler beaucoup de choses dans le cadre de ma thèse. Votre apport intellectuel et matériel, ainsi que vos conseils de grands frères ne m'ont jamais fait défaut aux moments les plus cruciaux. Votre simplicité, votre esprit d'équipe et votre disponibilité constante à aider ceux qui en ont besoin, font de vous un scientifique et un pédagogue admirable. Soyer rassuré de ma profonde reconnaissance.

- Au Docteur Touré Abdoulaye, MD et PhD en entomologie et parasitologie médicale. Chef d'unité <<interaction Vecteur-Parasite>> de la division entomologie du MRTC.

Votre disponibilité, votre courage, votre efficacité et votre clairvoyance forcent l'admiration des autres.

Veillez accepter cher maître, tous mes remerciements.

- A mes maîtres de terrain : Nafomon Sogoba, Moussa Keita, Dr Sekou Koumaré, Dr Mariko Sidiki. Ce travail est aussi le votre. Soyez sûr de toute ma reconnaissance.

- A mon maître, Dr Mahamoudou B Touré, vos apports ont été inestimables pour la réalisation de ce travail. Votre esprit d'écoute, votre humeur joviale et votre désir d'aider les autres m'ont beaucoup marqué. Acceptez ici mes reconnaissances intarissables.

- Pr. Yéya Tiémoko Touré : Premier Directeur du MRTC, Coordinateur de la recherche sur le paludisme et Manager du Comité d'Entomologie Moléculaire de l'OMS à Genève, scientifique infatigable et méticuleux. Ce travail est le fruit de l'effort conjugué de toute une équipe de recherche à laquelle vous avez su inculquer avant votre départ, l'esprit de la compétitivité dans l'honnêteté scientifique. Puisse ce travail exprime toute ma profonde reconnaissance et mon admiration.

- A mes autres maîtres et collègues du MRTC : Dr Richard K Sakai, Souleymane Karambé, Dr Yaya Coulibaly, Dr Benoit Dembélé, Abdallah Diallo, Lamine Soumaoro, Michel Coulibaly, Adama Dao, Oumou Niaré, Alpha Seydou Yaro, Dr Mamadou B. Coulibaly, Dr Abdoulaye Adamou, Adama Sacko, Abdramane Fofana, Moussa Diallo, Boubacar Coulibaly, Ibrahim Moussa Sissoko, Dr Brehima Diallo, Zoumana Traoré, Cheick A. Coulibaly.

- A mes collègues de thèse du MRTC : Brehima Diakité, Yaya Kassogué, Mariam Maïga, Sibiri Samaké, Boubacar Guindo, Saïdou Balam, Housseïny Dolo, Dramane Sanogo, Chaka Coulibaly, Chaka Konaté.

- A tous les informaticiens, chauffeurs et manoeuvres du MRTC.

C'est également le lieu de remercier les parents et les amis pour leurs apports, quelle que nature que ce soit. J'exprime ainsi toute ma reconnaissance à :

- Mes parents de Sevaré : Hawa Maïga, Aly Maïga, Mamadou dit samba Maïga, Mariam dite Inna Maïga, Abdoulaye Maïga, Ousmane Maïga, Moussa Maïga, Coumba Maïga, Aminata Maïga, Amadou Belia Maïga, Amadou Wailaba Maïga, Fanta Traoré, Hamadoun dit Karamoko Sissoko;

-Ibrahim Maïga, votre bonté dans la rigueur et vos encouragements ont beaucoup contribué à mes réussites scolaires et universitaires. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et de ma reconnaissance.

- A mes promotionnaires de la FMPOS, notamment Oumar Diallo, Alphamoye Djeïté, Henri Paré, Brahima Bocoum, Pathé Samassekou, Ousmane Haidara, Moussa Konaté, Bathio Traoré, Yacouba Kassambara, Boubou Coulibaly, Mory Diawara.

- Aux agents de santé du centre de santé de référence de la commune IV de Bamako : Fantamady Camara, Dr Mamadou Konaté, Dr Younoussa Sidibé, Namagan Keita, Dr Kalifa Traoré, Dr Mohamed Keita, Dr Brenima.

- A mes amis : Boukary Guindo, Idrissa Boloba, Hamadoun dit Anté Tembély, Modibo Soumaré, Sadio Keita, Amadou Malam, Fatoumata Tomota, Fatoumata Fama Dienta, Bintou Traoré, Fatoumata dite Titi Keita et Marama Camara.

- A mes maîtres et collègues pratiquants de Taekwondo:

Bakary Ballo 3^{ème} Dan, Alphousseïny Ouattara 5^{ème} Dan, Alassane et Housseïny Ouattara tous 2^{ème} Dan, ainsi que tous les élèves pratiquants du club Lafia et du stade Modibo Keita (SMK).

- Mes parents de la famille du colonel Feu Hamadoun Maïga de Quinzambougou, Gatto Dicko, Fadimata Dicko, Mouneya Moulaye, Ibrahim dit bourry Dicko, Moussa Sissoko, Hawa Alidji Maïga, mon homonyme Mamoudou Yoro, Diadié Mamoudou, Yacouba Maïga, Hassane Bah Garba Maïga, Alidji Maïga.

-A toute la population de Bancoumana notamment: Yacouba Camara, Souleymane Camara, Mamady dit Pikette Traoré, Adama Camara, Oumou Diabaté, Mariam Traoré et Mariama Camara.

AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président du jury

Professeur Abdourahamane Sidèye Maïga

Professeur en parasitologie médicale

Chef du service de parasitologie et de mycologie de l'INRSP

Chargé de l'enseignement de la parasitologie et de la mycologie à la FMPOS

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

Votre simplicité, votre expérience, votre sagesse, vos qualités scientifiques et pédagogique font de vous un maître respecté de tous.

Puisse ce travail exprime toute notre estime et toute notre entière confiance.

A notre maître et juge

Professeur Amagana Dolo

Maître de conférence agrégé de parasitologie et de mycologie à la FMPOS

Responsable de l'unité <<Immunologie>> au MRTC

Nous avons admiré vos qualités sociales et scientifiques, votre disponibilité constante et votre courage.

Soyez rassuré cher maître, de notre profond attachement et notre entière confiance.

A notre maître et juge

Docteur Seydou Doumbia

MD et PhD en épidémiologie

Chargé de l'enseignement de l'épidémiologie à la FMPOS.

Chef de l'unité GIS/GPS du MRTC

Nous sommes très honorés par votre présence dans ce jury.

Vos précieux conseils en matière de recherche scientifique et votre méthodologie pour le bon travail, nous ont servis de modèle. Puisse ce travail exprime toute notre profonde reconnaissance et notre admiration.

A notre maître et directeur de Thèse
Professeur Sekou Fantamady Traoré,

PhD en entomologie médicale,

Chargé de l'enseignement de biologie cellulaire à la FMPOS.

Chef de la section entomologie du MRTC

Co-directeur du MRTC

Vous nous faites un inestimable honneur en acceptant de diriger ce travail. Grâce à vos hautes qualités intellectuelles et sociales, votre rigueur scientifique et votre disponibilité, ce travail a pu voir le jour. Soyez rassuré de notre profond attachement de notre reconnaissance et de notre admiration.

A notre maître et Co-directeur de thèse

Docteur Guimogo Dolo

PhD en entomologie et parasitologie médicale

Chargé de l'enseignement de la génétique à la FMPOS

Chef de l'unité entomologie moléculaire du MRTC

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de co-diriger ce travail. Votre sens du partage, votre courage, votre disponibilité constante et vos qualités sociales très remarquables nous réconfortent à plus d'un titre.

Nous vous prions cher maître d'accepter ici tous nos remerciements

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN** = Acide Desoxy-ribonucleotide
An = *Anopheles*
AR = *An. arabiensis*
Bp = Base paire
Bti = *Bacillus thurigiensis israelensis*
B/S = Bamako et Savane
DEA = Diplôme d'Etude Approfondie
DEAP = Département Epidémiologique des Affections Parasitaires
DEC = Décembre
DNTP = Di-Nucléotide Tri-Phosphate
EDTA = Ethylene diamine tetra-acétique acide
ELISA = Enzyme Linked Immuno Sorbent Essay
ENMP = Ecole Nationale de médecine et de pharmacie
ENSUP = Ecole Nationale Supérieure
FAST = Faculté des sciences et techniques
FEV = Février
Fig = figure
FMPOS = Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
GA = *An. gambiae s.s*
ISFRA = Institut Supérieur de Formation et de Recherche Appliquée
JAN = Janvier
JUL = Juillet
Mg cl2 = Chlorure de magnésium
MRTC = Malaria Research and Training Center (Centre de recherche et de Formation sur le Paludisme)
Nbre = nombre
NOV = Novembre
OCT = Octobre
OHVN = Office Haute Vallée du Niger
OMS = Organisation Mondiale de la Santé
P = page
PCR = Polymerase chain reaction (réaction de polymérisation en chaînes)
RACE = recensement administratif à caractère électoral
SEPT = Septembre
S.l = Sensu lato (sens large)

STD = Standard de déviation
S.S = Sensu stricto (sens stricte)
TBE = Tris Borate EDTA
UN = universelle
UV = ultra-violet

Sommaire

1.Introduction.....	1
2.Généralités.....	3
2.1. Le parasite.....	3
2.2. Le vecteur.....	3
2.2.1.Caractères généraux.....	3
2.2.2. Cycle Biologique des anophèles.....	4
2.3. Les méthodes de lutte contre le paludisme.....	7
2.3.1. La lutte contre le parasite.....	7
2.3.2. La lutte anti-vectorielle.....	7
2.3.2.1. La lutte anti-larvaire.....	7
A. Lutte biologique.....	8
B. Lutte physique.....	8
C. Lutte chimique.....	9
2.3.2.2 La lutte anti-adulte.....	10
3. Matériels et méthode.....	11
3.1. Lieu d'étude.....	11
3.1.1 Localisation géographique.....	12
3.1.2 Historique.....	12
3.1.3 Climat et végétation.....	12
3.1.4 Relief et hydrographie.....	13
3.1.5 Population.....	13
3.1.6 Economie.....	13
3.1.7 Organisation sociale et administrative.....	14
3.1.8 Infrastructures.....	14
3.2 Période et type d'étude.....	14
3.3 Etude des gîtes larvaires.....	14
3.4 Capture de moustiques adultes.....	17
3.5 La pluviométrie mensuelle.....	19
3.6 Identification moléculaire de la population vectrice.....	19
3.6.1Technique d'extraction de l'ADN.....	19
3.6.2 Principe général de la PCR.....	19
3.6.3 Identification des espèces <i>An. arabiensis</i> et <i>An. gambiae s.s.</i>	20
A- Paramètres d'amplification de l'ADN.....	20
B- Interprétation.....	20

3.6.4	Identification des formes moléculaires d' <i>An. gambiae s.s</i>	20
A -	Paramètres d'amplification de l'ADN.....	20
B -	Interprétation.....	20
3.7	Gestion et analyse des données.....	20
4.	Résultats	21
4.1	Etude de la population larvaire.....	21
4.1.1	Types de gîtes larvaires.....	21
4.1.2	Répartition des gîtes larvaires selon la présence d'eau.....	23
4.1.3	Distribution des gîtes selon la présence de larves.....	24
4.1.4	Productivité des gîtes selon la présence de végétation.....	26
4.1.5	Productivité des gîtes selon la présence de prédateurs.....	27
4.1.6	Productivité des gîtes selon leur taille.....	28
4.1.7	Productivité des gîtes selon l'aspect de l'eau.....	30
4.2	Etude des densités d' <i>An. gambiae s.l.</i>	31
4.3	Structure moléculaire.....	34
5.	Commentaires et Discussions	39
5.1	Etude des gîtes	39
5.2	Etude des densités d' <i>An. gambiae s.l.</i>	40
5.3	Caractérisation moléculaire d' <i>An. gambiae s.l.</i>	41
6.	Conclusion et recommandations	42
7.	Bibliographie	43
8.	Annexes	

1. Introduction

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

Dans le monde, 2,6 milliards d'individus, soit 55% de la population mondiale sont exposés à cette maladie dans 90 pays ou territoires [1].

Les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans sont les plus vulnérables ; et un enfant sur vingt meurt de paludisme avant l'âge de 5 ans [2].

L'Afrique est le continent le plus touché, avec environ 300 à 500 millions de cas par an et une mortalité annuelle de 1,4 à 2,6 millions selon l'OMS en 1994 [3].

Au Mali, 28,9% des consultations médicales sont dues à cette affection avec des taux de mortalité et de morbidité respectifs de 26,13% et 27,16% [4].

Les principaux vecteurs en Afrique sub-saharienne et plus particulièrement au Mali sont : *An. gambiae s.l.* et *An. funestus* [5]. La population d'*An. gambiae s.l.* est composée d'*An. arabiensis* et d'*An. gambiae s.s.* (avec ses 3 formes chromosomiques : *Bamako*, *Savane* et *Mopti*).

Face à l'échec de la plupart des stratégies de lutte contre le paludisme, l'OMS a adopté en 2002 l'initiative « Roll Back Malaria » : Faire reculer le paludisme [2]. Elle a lancé un appel pour le développement de nouvelles approches innovatrices en matière de lutte contre le paludisme. Pour cela, plusieurs moyens synergiques ont été définis parmi lesquels la lutte anti-vectorielle.

Les larves d'anophèle sont une cible potentielle dans le contrôle des vecteurs du paludisme. La modification de leur habitat écologique a été la clé des efforts d'éradication du paludisme aux Etats-Unis, en Israël et en Italie [6].

An. gambiae s.l., est le principal vecteur du paludisme à Bancoumana (99,20% en 2001). La densité baisse considérablement pendant la saison sèche. A la faveur des premières pluies la population régénère grâce à quelques individus ayant survécus pendant la saison sèche [7]. Deux hypothèses non exclusives ont été avancées pour expliquer les mécanismes de survie des anophèles en saison sèche [8, 9] :

- Ils estiveraient à l'état adulte pendant cette période dans des endroits indéterminés ;

- de rares gîtes larvaires existeraient tout au long de la saison sèche et qui serviraient d'inocula aux gîtes reconstitués en saison de pluies.

La compréhension de la dynamique des populations d'*An. gambiae s.l.* en général et en particulier des mécanismes de survie pendant la saison sèche à Bancoumana s'avèrent nécessaire pour l'élaboration d'une stratégie sélective et bien adaptée de lutte anti-vectorielle dans ce village.

Le présent travail vise à étudier d'une part l'écologie d'*An. gambiae s.l.* , et d'autre part à identifier ses formes moléculaires sur le site en saison sèche.

Pour cela, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

Objectif général

Evaluer la distribution mensuelle des gîtes larvaires et une caractérisation moléculaire du complexe *An. gambiae s.l.* à Bancoumana.

Objectifs spécifiques

- Identifier et caractériser les gîtes larvaires d'*An. gambiae s.l.* à l'intérieur et autour du village de Bancoumana ;
- Déterminer les variations des densités d'*An. gambiae s.l.* dans les habitations humaines ;
- Déterminer les fréquences des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s.* à Bancoumana en saison sèche.

2. Généralités

2.1. Le parasite

Le *Plasmodium* est un protozoaire qui se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies, d'où son nom d'hématozoaire.

Quatre espèces plasmodiales sont responsables de paludisme humain : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Au Mali toutes ces espèces plasmodiales sont rencontrées. L'espèce la plus fréquente et la plus dangereuse est *P. falciparum* [10]. Un seul cas de *P. vivax* a été décrit au Mali en 1988 [10].

Le cycle du *Plasmodium* exige deux hôtes pour accomplir son développement : un hôte définitif invertébré (le moustique) et un hôte intermédiaire vertébré (l'homme).

2.2. Le vecteur

Le vecteur du paludisme est un moustique du genre *Anopheles*. Les anophèles appartiennent au règne animal, à l'embranchement des arthropodes, à la classe des insectes, à l'ordre des diptères nématocères, à la famille des *Culcidae* et à la sous-famille des *Anophelinae*. Les principaux vecteurs en Afrique sub-saharienne et plus particulièrement au Mali sont : *An. gambiae s.l.* et *An. funestus* [5]. Le complexe *An. gambiae* comprend sept espèces jumelles dont les plus importantes sont *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis*. Au Mali, *An. gambiae s.s.* comprend trois formes chromosomiques (Bamako, Mopti, et Savane) entre lesquelles il existe un certain degré d'isolement reproductif [11]. Notons qu'il n'existe que deux formes moléculaires ("M" qui est la forme Mopti et "S" qui regroupe les formes chromosomiques Bamako et Savane).

2.2.1. Caractères généraux

Leur développement comprend quatre phases successives : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago.

Œufs : Les œufs sont ovalaires aux extrémités relativement pointues et relevées vers le haut muni de flotteurs latéraux pleins d'air. Les œufs se disposent les uns par rapport aux autres de façon à former à la surface de l'eau, par le jeu des forces de surface, des figures géométriques en étoile.

Larve : Le siphon respiratoire est absent, des soies palmées et des plaques tergaux chitineuses sont présentes sur les segments abdominaux.

Nymphe : palettes natatoires avec 2 soies. Une forte soie en forme d'épine aux angles postérieurs des segments abdominaux IV à VII ; trompettes respiratoires courtes, évasées et fendues.

Imago : Les palpes sont aussi longues que la trompe dans les deux sexes, renflées en raquette à leur extrémité chez les mâles. L'abdomen presque entièrement dépourvu d'écailles.

Leur corps est divisé en trois parties :

- La tête porte deux yeux et deux palpes de même longueur que la trompe qui est aussi appelée proboscis ;
- Le thorax comprend trois parties : le prothorax, le mésothorax portant la paire d'ailes fonctionnelles et le métathorax qui porte les pattes postérieures ;
- L'abdomen est constitué de dix segments, dont les 9^{ème} et 10^{ème} peu visibles, représentent les segments génitaux.

L'espèce *An. funestus* se distingue morphologiquement d'*An. gambiae s.l.* par sa taille plus petite et sa couleur plus sombre [12].

2.2.2. Cycle biologique des anophèles

Les anophèles pondent leurs œufs à la surface de l'eau. Ces œufs, munis de flotteurs remplis d'air, éclosent généralement 24 à 36 heures après la ponte [12]. La larve subit trois mues consécutives qui, par les modifications morphologiques qu'elles engendrent, la conduisent au 4^{ème} stade de larve.

La nymphe a l'aspect d'une virgule. Au bout de 24 heures, elle se transforme en moustique adulte ou imago qui émerge de l'eau. Seules les femelles sont hématophages, les mâles quant à eux sucent le suc des plantes.

Les mâles fécondent les femelles qui prennent un ou plusieurs repas de sang (selon les espèces) et vont pondre dans les gîtes les plus proches.

Après l'éclosion, il faut environ 7 à 12 jours pour *An. gambiae s.l.* et trois semaines pour *An. funestus*, pour effectuer la totalité du cycle : de l'œuf à l'imago [12].

Les anophèles, sauvages à l'origine [12], sont à l'heure actuelle, hautement anthropophiles. Les femelles peuvent demeurer dans les habitations où elles s'alimentent et se reposent jusqu'à la maturation de leurs œufs.

Cependant, il arrive plus fréquemment que le moustique pénètre dans les habitations au petit soir (18-20 heures), quittant ainsi son abri diurne (cases abandonnées, puits désaffectés, anfractuosités diverses, etc.).

En général, le pic de l'activité des anophèles se situe après minuit [12].

La longévité des anophèles femelles adultes est d'une vingtaine de jours, n'excédant pas plus d'un mois dans les conditions habituelles. Elle est plus réduite pour le mâle. Il est généralement admis que la mortalité des anophèles femelle n'est pas constante mais augmente avec l'âge, tout particulièrement après une vingtaine de jours de vie pour *An. gambiae s.l* et *An. funestus*.

La dispersion moyenne des anophèles adultes en vol est de l'ordre de 1 km à 1,6 km, pouvant atteindre 3 km. La distance de 7 km est la limite maximale observée pour *An. gambiae s.l*. [13].

Dans les zones tropicales, la présence de la plupart des espèces de moustiques est continue tout au long de l'année, avec des variations saisonnière des densités liées aux conditions climatiques. Pendant la saison sèche notamment au sahel et au Sahara, ces conditions deviennent nettement défavorables, entraînant une disparition apparente des populations anophéliennes.

Cycle biologique d'un *Anophelinae*

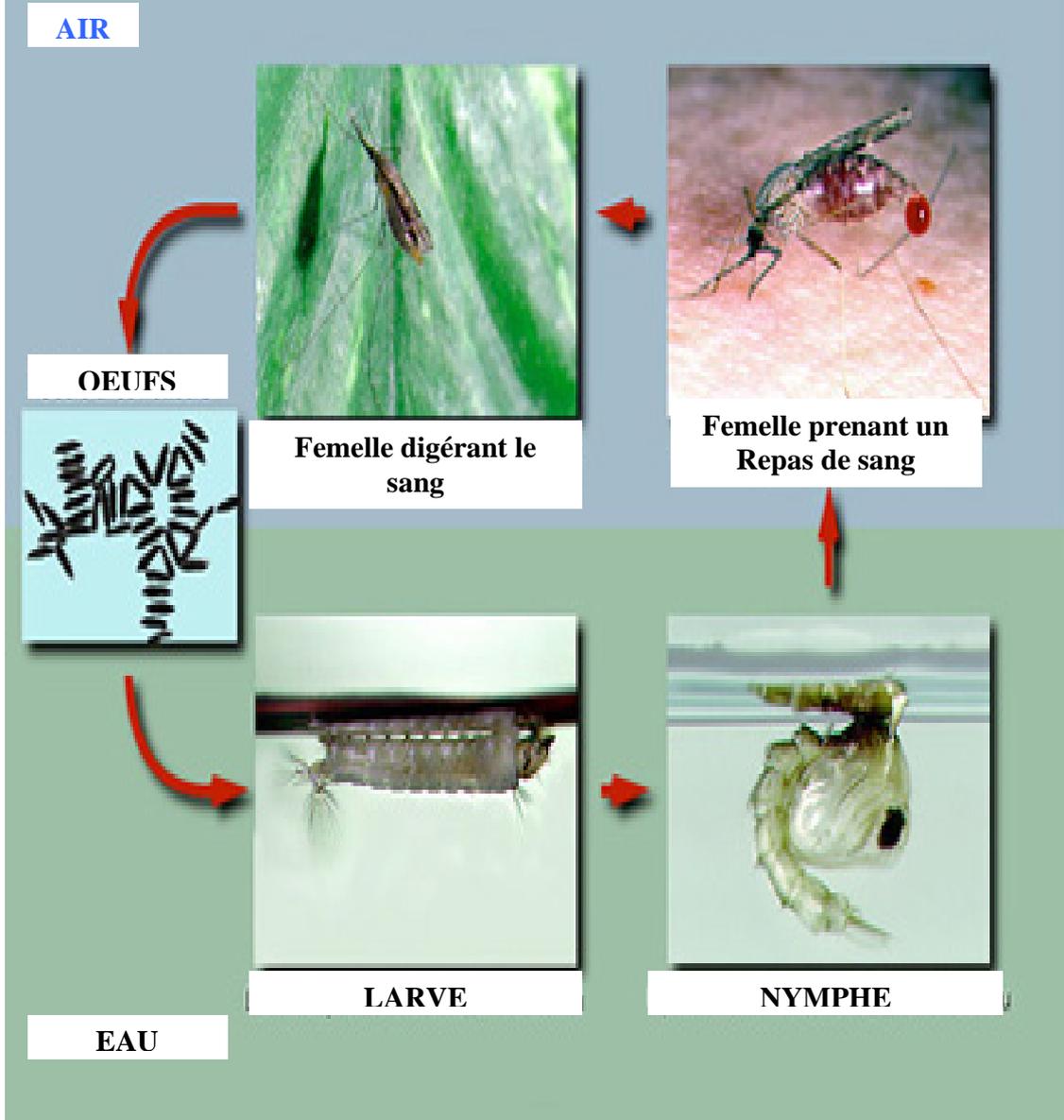


Figure 1: Cycle biologique d'*Anophelinae* (Brunhes *et al*, 1998).

2.3. Les méthodes de lutte contre le paludisme

Deux méthodes peuvent être mises en œuvre pour lutter contre le paludisme, l'une visant à détruire l'agent pathogène, l'autre orientée contre le vecteur.

2.3.1. La lutte contre le parasite

Cette lutte repose sur l'utilisation des substances antipaludiques (schizonticides et gamétocides) qui sont actives contre les différents stades sanguins du parasite. Elle vise soit à éliminer les parasites déjà présents chez un hôte (c'est la chimiothérapie), soit à prévenir l'installation et le développement du parasite chez l'homme (chimioprophylaxie).

Les parasites résistent de plus en plus aux médicaments anti-paludiques les plus usuels comme la chloroquine ou l'association sulfadoxine-pyriméthamine [14]. Un consensus s'est dégagé récemment pour privilégier des associations à base d'artémisinine. L'association de deux médicaments est l'un des moyens de limiter l'apparition des pharmaco-résistances car le risque d'apparition simultanée d'une résistance à deux produits différents est très faible. De plus, les nouvelles combinaisons médicamenteuses parviennent à éliminer le parasite et permettent au malade de récupérer beaucoup plus rapidement.

2.3.2. La lutte anti-vectorielle

Elle repose sur la rupture ou la réduction du contact homme – vecteur.

Différentes méthodes de lutte sont applicables contre les larves, et ou contre les adultes.

2.3.2.1. La lutte anti-larvaire

La lutte anti-larvaire s'effectue au niveau des gîtes et consiste à détruire les larves avant qu'elles ne deviennent des adultes. Cette lutte peut être :

- biologique : par introduction de prédateurs dans les gîtes;
- physique : par élimination ou modification des biotopes où les larves peuvent se développer ;
- chimique : par épandage de larvicides (avec ou sans modification du milieu naturel).

A. Lutte biologique :

L'exemple le plus connu est celui du poisson larvivoire *Gambusia affinis* dont l'action est limitée aux eaux permanentes.

Le cas de *Bacillus thurigiensis israelensis* (Bti) est un autre exemple. C'est une bactérie qui produit des toxines très actives contre les larves par ingestion. Elle est sans danger pour l'homme, les autres insectes, les poissons et animaux supérieurs aux doses normales. Elle peut être utilisée dans les eaux d'irrigation des cultures vivrières et dans les eaux de boisson. Elle a le désavantage d'être active par ingestion alors que sa densité l'entraîne au fond et que les larves d'anophèle se nourrissent en surface. Elle se détruit très rapidement dans le milieu naturel et doit donc être réappliquée périodiquement [15].

Bacillus sphaericus produit aussi une toxine dont les caractéristiques sont semblables à celle de Bti, mais reste plus active dans les eaux polluées, tandis que Bti est plus efficace dans l'eau propre [15].

B. Lutte physique

C'est une modification intentionnelle du biotope, qui vise à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent [16]. On distingue :

Le drainage qui consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu récepteur naturel (tel qu'un cours d'eau, un terrain perméable etc...). Il a l'avantage d'évacuer rapidement les eaux et d'entraîner les oeufs et les larves vers des milieux défavorables à leur développement. Mais la disponibilité d'un milieu récepteur naturel situé à une distance raisonnable du gîte peut constituer un facteur limitant de cette méthode.

La mise en boîte qui consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, et par conséquent de réduire la superficie du gîte à empoisonner.

Cette méthode est utilisée dans le cas de gîtes importants situés loin d'un milieu récepteur naturel. Cette mise en tranchée, nécessite la connaissance du volume d'eau dans le gîte.

Le captage des résurgences Ils proviennent des nappes artésiennes ou nappes captives.

Pour éliminer ces résurgences on peut utiliser soit :

- le pompage à l'aide d'une pompe à moteur;
- l'installation d'une pompe éolienne ;
- l'aménagement en puits ;

- le drainage vers un milieu récepteur naturel.

Ces solutions sont fonction du débit de la source et de la permanence de celle-ci.

Le comblement se fait à l'aide de matériaux (pierres, débris de construction etc...). Cette méthode est surtout utilisée pour des gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne. Ces matériaux devront souvent être transportés sur de longues distances, et nécessitent d'être compactés, ce qui élève le coût du comblement.

A part la solution de comblement, toutes les autres nécessitent souvent un travail d'entretien (désherbage, curage, mise à bord franc, etc...).

D'une façon générale, les travaux de génie sanitaire peuvent être améliorés par un reboisement au niveau des surfaces assainies.

Le boisement Il est bénéfique et rentable de prévoir la plantation d'arbres, comme l'eucalyptus ou d'autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau à faible débit mais d'écoulement continu.

C. Lutte chimique

Il s'agit de répartir uniformément et périodiquement, une certaine quantité de pesticide sur la surface de l'eau qui abrite les gîtes larvaires et d'exposer ainsi les larves à des substances naturelles ou de synthèse qui provoquent la mort des arthropodes par empoisonnement.

Les insecticides organophosphorés sont les plus utilisés en dépit de leur niveau de résistance en augmentation dans certaines régions.

Le Temephos qui a une très faible toxicité pour les mammifères a été le larvicide le plus utilisé dans le monde [15]. Il peut être mis dans l'eau d'irrigation et a aussi été utilisé pour traiter les eaux de boisson. Il est cependant toxique pour les poissons.

Le Fenthion est aussi communément utilisé à condition de ne pas contaminer l'eau de boisson et les aliments [15].

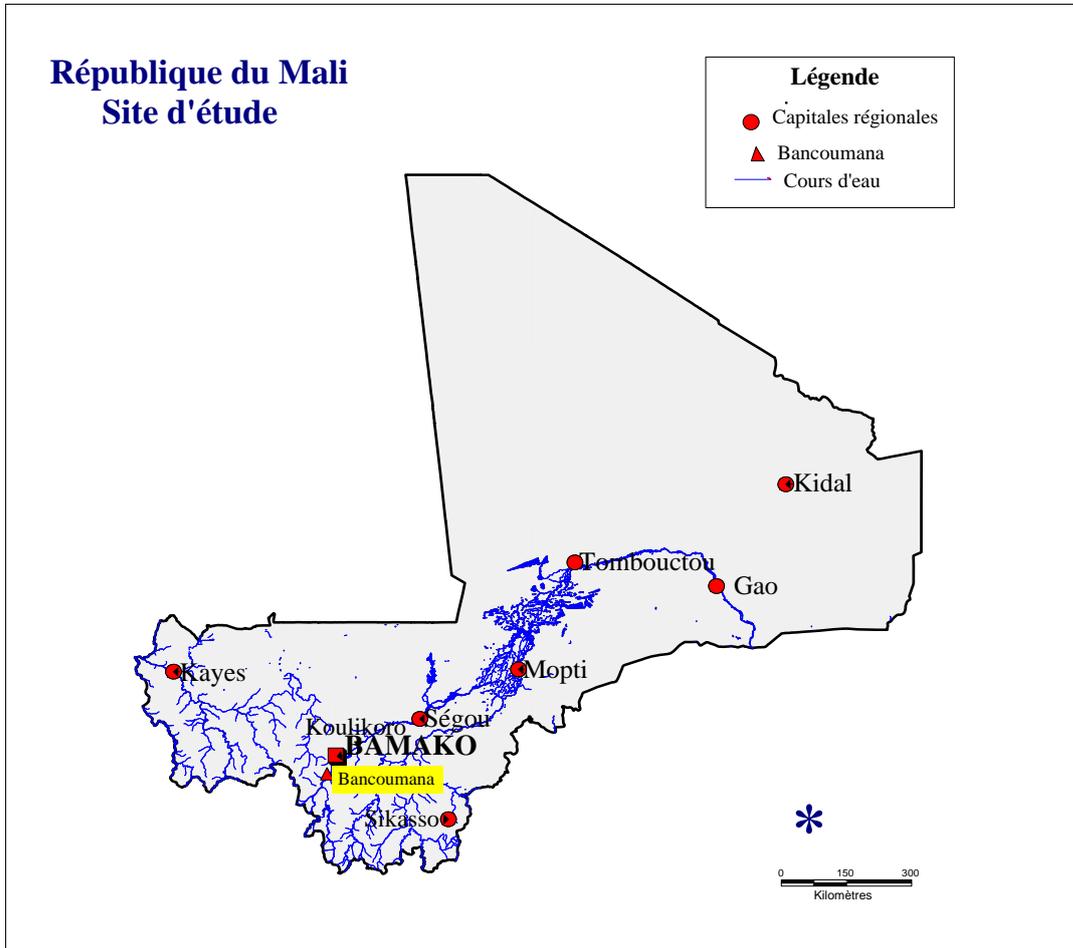
2.3.2.2. La lutte anti-imaginale

Différentes méthodes sont utilisées pour lutter contre les moustiques adultes et ou limiter le contact Homme- vecteur [17]. Il s'agit:

- des grillages fins imprégnés d'insecticide aux fenêtres et s'assurer régulièrement qu'il n'y a aucun trou. Les bouches d'aération et de ventilation doivent aussi être grillagées. La climatisation est très efficace car le froid ralentit l'activité et la reproduction des insectes;
- des diffuseurs électriques qui protègent la chambre pendant 45 nuits (8 à 10 heures par nuit) en diffusant régulièrement un insecticide inoffensif;
- des spirales insecticides à combustion lente assurent également une bonne protection et tuent les insectes. Elles peuvent être utilisées sous une véranda ou dans une pièce aérée. Elles protègent pendant 6 à 8 heures;
- de moustiquaires chimiquement imprégnées qui sont de loin, la protection la plus facile, la moins chère et la plus efficace contre les moustiques. C'est une protection aussi efficace à l'intérieur qu'à l'extérieur de la maison. Afin de la garder en bon état, elle doit être maintenue attachée dans la journée. Pour un maximum de protection, s'assurer qu'elle ne soit pas déchirée ou trouée et ne pas oublier de rabattre les bords sous le matelas. L'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide réduit considérablement le risque de transmission du paludisme dans une région où le paludisme est endémique. C'est idéal pour protéger les jeunes enfants et les femmes enceintes qui ne peuvent pas toujours utiliser les autres mesures contre le paludisme.
- Utiliser les bombes insecticides (spray) qui offrent une protection de courte durée, juste quelques minutes après leur pulvérisation. Ils restent utiles, avant d'entrer dans une pièce, ou avant d'aller dormir pour tuer tout insecte ayant pu pénétrer.

3. Matériels et méthodes

3.1. Lieu d'étude : Bancoumana



Source: Africa Data sampler (ADS), World Resources institutes

Figure 2 : Carte du Mali indiquant le site d'étude (Bancoumana)

3.1.1 Localisation géographique

Le village de Bancoumana est situé à 60 km au Sud-ouest de Bamako à 8°20 longitudes Ouest et à 12°20 latitude Nord. Il couvre une superficie de 2,5 km² en bordure de la plaine de la haute vallée du Niger (Djoliba). Il est limité au Nord-est par les villages de Kollé et Bally, au Nord par le village de Sibi, au Nord-ouest par le village de Samako, au Sud-ouest par le village de Nanguilabougou et au Sud-est par le fleuve Niger.

3.1.2 Historique

Au 16^{ème} siècle un des chefs guerriers de la contrée de Naréna du nom de Nankouma Keïta revenant d'une expédition qui l'amenait à Kong (Sikasso), où il allait faire des razzias, fit connaissance de ce site giboyeux. Il demanda alors à son jeune frère qui fut son fidèle compagnon de conduire le butin d'esclaves à Naréna pour le remettre à son grand-frère et en même temps lui demander l'autorisation d'un séjour de chasse sur le site. Le grand-frère ayant reçu le message, s'opposa et ordonna à Nankouma de rejoindre immédiatement Naréna. Ce dernier refusa en disant en malinké « N'yé ban kouma ma » qui est devenu par la suite Bancoumana. A l'issue de guerres fratricides, trois frères Camara s'installèrent avec l'autorisation de Nankouma qui avait fini par abandonner le site sous la pression de son grand frère. De cette date à nos jours, environ une vingtaine de chefs de village s'y sont succédés.

3.1.3 Climat et végétation

Bancoumana est situé dans la zone soudano-guinéenne. Le climat est de type soudanien, avec des températures très variables au cours de l'année dont les plus basses (18°C) sont observées au mois de janvier et les plus élevées au mois de mai (38°C).

La mousson, vent maritime, et l'harmattan, vent continental, se succèdent le long de l'année.

On y observe une saison pluvieuse (mai à octobre), et une saison sèche divisée en saison sèche fraîche (novembre à janvier) et en saison sèche chaude (février à mai).

La végétation est du type de savane herbeuse avec quelques galeries forestières le long du fleuve Niger. On y rencontre des grands arbres comme le karité (*Vitellaria paradoxa*) le Néré (*Parkia biglobosa*), le manguier, l'oranger, et des arbustes recouvrant une strate herbacée.

La faune est constituée surtout par de petits mammifères notamment les lièvres, les hérissons et quelques phacochères. Les reptiles sont représentés par les margouillats, les scorpions et quelques espèces venimeuses.

3.1.4 Relief et hydrographie

Il est marqué par la présence d'une vaste plaine rizicole de plus de 900 hectares qui s'étale entre le village et le fleuve Niger situé à 5 km et à l'Est. La moyenne pluviométrique annuelle est de 961,9 mm.

3.1.5 Population

Selon le recensement administratif à caractère électoral en 2001(R.A.C.E, 2001), le village de Bancoumana, compte environ 7746 habitants. Le sexe féminin constitue 52% de la population générale.

Cette population est composée en majorité de Malinkés cultivateurs (85%) ; de Peuhls éleveurs (10%), de Bambara, de Sarakolé de Somono et de quelques Bozo pêcheurs.

L'islam est la religion dominante à côté du christianisme et des vieilles coutumes animistes.

3.1.6 Economie

Les ressources naturelles du village sont représentées par les produits de cueillette (noix de karité, fruits de Néré, et le tamarin), le sable, le gravier, et des traces de métal jaune (non encore prospectées).

L'agriculture est basée sur les cultures vivrières (mil, sorgho, riz, maïs et haricot) ; les cultures maraîchères (tomates, oignons, goyaves, tabac, arachides et pastèque) ; ainsi que les cultures de plantation (manguier, bananier, oranger, citronnier, manioc et papayer).

Les populations pratiquent l'élevage de bovins, d'ovins (moutons), de caprins (chèvres), d'équins (ânes et chevaux), et de volaille (poules et pintades).

La pêche pratiquée dans le fleuve est appréciée par la présence de poissons de diverses variétés.

La forge et la poterie sont les principales activités de l'artisanat.

La route Bamako-Kangaba traverse le village. Il est relié à Sibi par une route secondaire. Un autre tronçon lui relie à Karan, Naréna, Kourémalé. Bancoumana est situé sur un bief navigable du Niger. Le fleuve est navigable sur Bamako, Samayana, Djoliba, Kirina, Koursalé, Kollé, Keniéroba, et Kangaba. Ces voies de communication permettent beaucoup d'échanges commerciaux entre Bancoumana et les villages riverains.

3.1.7 Organisation sociale et administrative

A Bancoumana la chefferie est le monopole de la famille Camara fondatrice du village. De façon coutumière la succession du chef au sein de cette famille se fait selon le patriarcat. Tigatigui Makan Camara est le dernier chef de village. Il n'y a pas actuellement de chef de village.

3.1.8 Infrastructures

Le village de Bancoumana possède deux écoles fondamentales (deux premiers cycles et un second cycle) et une école franco-arabe primaire.

Il est doté d'un centre de santé communautaire dirigé par un médecin et comprenant un dispensaire, une maternité, et une pharmacie.

Le village est accessible en toutes saisons grâce à une route reliant Bamako à Kangaba. Cette route est entretenue régulièrement après chaque saison des pluies.

3.2 Période et type d'étude

L'étude s'est déroulée pendant une année (de juin 2004 à Mai 2005). C'est une étude longitudinale avec des passages transversaux mensuels répétés.

3.3 Etude des gîtes larvaires :

Identification et géo-positionnement des gîtes larvaires

Au début de cette étude, avec l'aide des guides locaux, nous avons recherché et géo-positionné (avec le *Trimble Geo Explorer 3*) tous les gîtes larvaires situés à l'intérieur et au autour du village y compris ceux au bord du fleuve.

Suivis et prospections des gîtes larvaires

Un suivi mensuel des gîtes a été fait de juin 2004 à mai 2005. Cependant, à chaque passage les nouveaux gîtes repérés étaient aussi géo-positionnés et ajoutés à la base de données. Pour cela, nous bénéficions à chaque fois de l'aide des habitants.

A chaque gîte était attribué un numéro d'identification en fonction de sa localisation dans le village, du type de gîte et de l'ordre de repérage. Ceci permettait de retrouver toujours les informations les concernant de façon rapide.

Collecte des données sur les gîtes

A chaque passage (tous les mois) on déterminait :

- Le type de gîte: description physique du gîte qui pouvait être un trou de banco, un vieux puits, une flaque d'eau, une empreinte de pneu, un cours d'eau, etc... ;
- La taille du gîte (diamètre, profondeur) ;
- L'état d'exposition du gîte au soleil ;
- L'aspect de l'eau du gîte ;
- Présence/absence de larves d'anophèles;
- Présence/absence de végétation ou tous autres objets pouvant servir de cachette aux larves ;
- Présence/absence de coléoptères et de notonectidés (prédateurs) ;



Source : GIS/RS MRTC/FMPOS, 2006

Figure 3a : Photo de trou de banco laissé par confection de briques de construction en saison sèche à Bancoumana.



Source : GIS/RS MRTC/FMPOS, 2006

Figure 3b : Photo de gîtes larvaires du bord du fleuve en saison sèche à Bancoumana.

Collectes de larves d'*An gambiae s.l*

Après avoir constaté la présence de larves au cours des différentes prospections, nous collectons des échantillons de larves d'*An gambiae s.l* par la technique de « Louchée » [18].

Les larves étaient triées sur le terrain et classées par stade de développement. Les larves de grandes tailles sont plus faciles à traiter au PCR (turtiration). Les larves de stade 3 et 4 étaient directement conservées dans des cryotubes contenant l'éthanol 80% et conservées dans le congélateur. Les petites larves (stade 1 et 2) étaient gardées dans un plateau contenant l'eau du gîte et nourries avec de la poudre de croquettes pour les chats jusqu'au stade 4 avant d'être aussi prélevées et conservées comme préalablement décrit.

Traitement de larves d'*An gambiae s.l*

Les larves étaient transportées au laboratoire (MRTC) pour l'identification des espèces et sous-espèces par la technique PCR (*Polymerase Chain Reaction*). L'idée de traitement des larves à la PCR a été intégrée dans le protocole d'étude en décembre 2004 et a donc concerné les larves de décembre 2004 à mai 2005.

3.4 Capture de moustiques adultes

Technique d'échantillonnage :

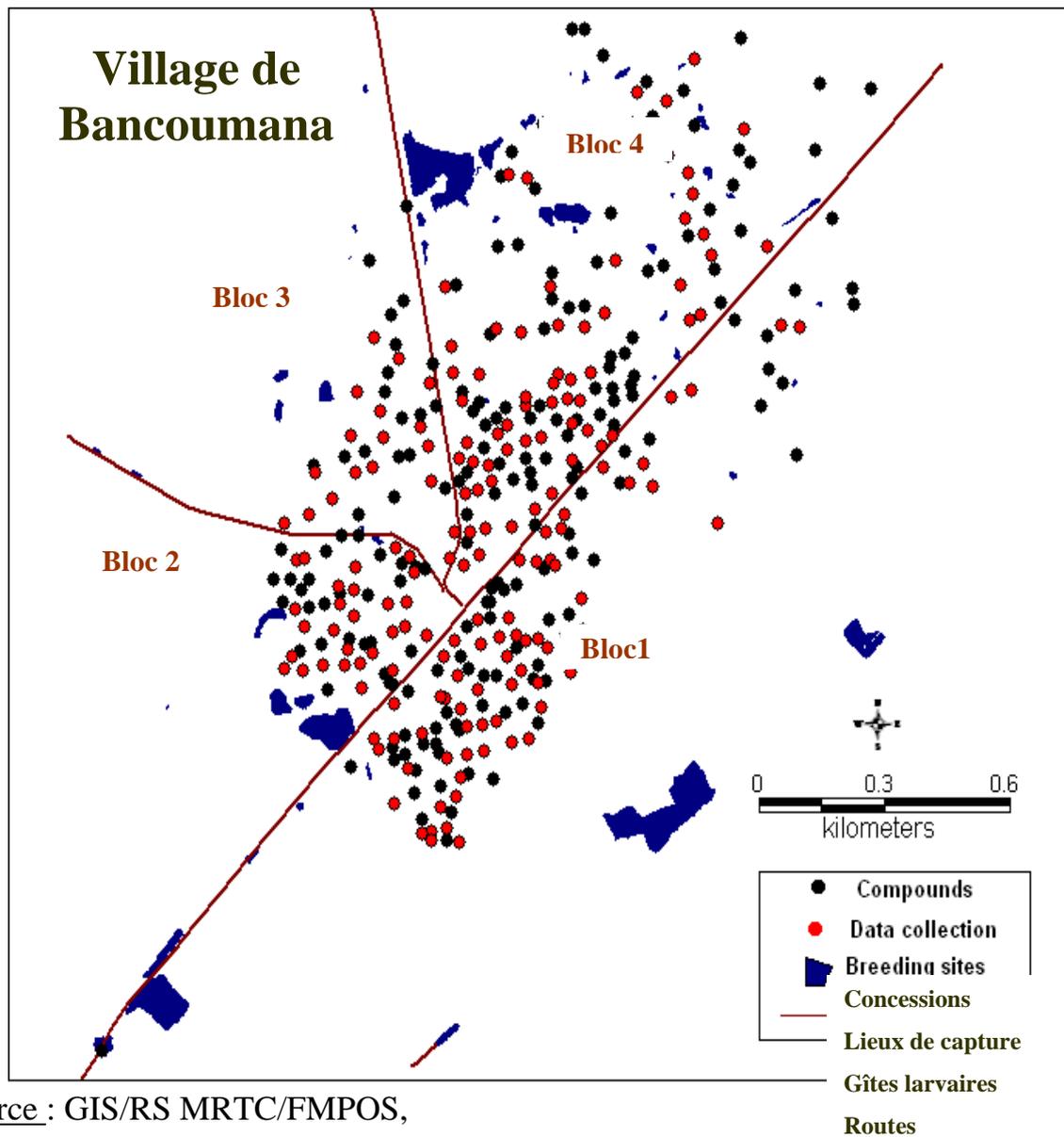
Il s'agit de captures de moustiques adultes dans les habitations humaines. Le Spray catch a été la méthode utilisée pendant cette étude.

Technique : Il s'agit des captures de moustiques par aspersion intradomiciliaire d'insecticides à base de pyréthriinoïdes entre 15 heures et 18 heures. Les noms du propriétaire de la case et du chef de famille étaient notés.

Méthode : Nous avons adopté la subdivision du village en quatre entités géographiques ou blocs qui existaient déjà dans les études entomologiques antérieures. Cette subdivision est plus ou moins arbitraire où seules les principales artères ont été considérées comme limite de bloc. Le nombre de cases prospectées variaient en fonction de la taille du bloc (N = 180 cases par passage). Ainsi:

- Le bloc 1 comptait 67 concessions de captures. A 300 m au sud, se trouve le canal d'irrigation et la plaine inondable qui constituent les principaux gîtes larvaires de moustiques [19] ;
- Le bloc 2 comptait 30 concessions de captures et abrite des gîtes semi permanents qui sont généralement des trous de banco et des marres ;
- Le bloc 3 comptait 18 concessions de captures ;
- Le bloc 4: Il constitue la zone d'extension du village, avec des concessions éparpillées. Il comptait 65 concessions de captures et

abrite aussi des gîtes semi permanents qui sont des trous de banco laissés par la confection de briques ;



Source : GIS/RS MRTC/FMPOS,

Figure 4: Carte de Bancoumana montrant les quatre blocs et les 180 cases prospectées en spray catch.

Conservation et traitement : Les moustiques capturés étaient conservés dans du *Carnoy* (3 volumes d'éthanol pour 1 volume d'acide acétique) et acheminés au laboratoire pour être traité par la technique PCR. Ces collectes ont permis d'estimer par passage la densité des vecteurs adultes à l'intérieur du village.

3.5 La pluviométrie mensuelle :

Les hauteurs pluviométriques ont été relevées au service météorologique de Bancoumana par l'OHVN après chaque tombée des pluies. A chaque fin du mois on procédait à un cumul mensuel et les moyennes par mois étaient calculées.

3.6 Identification moléculaire de la population vectrice

La caractérisation moléculaire d'*An. gambiae s.l.* a porté sur l'étude de l'ADN ribosomal (ADNr) qui constitue un matériel de choix pour la différenciation des espèces d'anophèles très proches.

3.6.1 Technique d'extraction de l'ADN (voir annexes)

3.6.2 Principe général de la PCR (Polymerase Chain Reaction)

C'est une technique d'amplification d'une séquence d'ADN flanquée par deux amorces de séquence connue. Elle est conçue sur le principe de la réplication de l'ADN (dans les cellules vivantes avant la mitose) qui permet à partir d'un brin d'ADN d'engendrer deux nouveaux brins semblables aux brins parentaux.

L'amplification de l'ADN se déroule en 3 étapes :

- la dénaturation : phase au cours de laquelle les fragments d'ADN bicaténaires qui s'hybrident sont dénaturés en simples brins par l'augmentation de la température entre 90 et 97°C. Cette étape dure 15 à 30 secondes en fonction de la taille de la molécule ;
- l'hybridation : pendant cette phase, il y a un appariement des amorces aux séquences complémentaires de l'ADN simple brin. La température pendant cette période de 15 à 45 secondes varie de 50 à 72°C ;
- l'élongation : au cours de laquelle l'ADN polymérase allonge les amorces en ajoutant des nucléotides à partir de l'extrémité 3' OH. La température pendant cette phase est fixée à 72°C qui est le point optimal pour l'activité de l'ADN polymérase. Le temps varie de 30 secondes à une minute.

3.6.3 Identification des espèces *An. arabiensis* et *An. gambiae s.s*

A. Paramètres d'amplification de l'ADN (voir annexes)

B. Interprétation

La révélation des amplifiats d'ADN, a été faite par électrophorèse sur un gel d'agarose à 2%. L'interprétation a consisté à identifier les espèces en fonction des niveaux de migration des bandes : 393bp pour *An. gambiae s.s.* et 318bp pour *An. arabiensis* [20]

3.6.4 Identification des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s.*

L'identification des formes moléculaires été faite selon la technique de Favia [21], à partir de l'ADN obtenu depuis la réaction d'identification des espèces d'*An. gambiae s.l.*

A. Paramètres d'amplification de l'ADN (voir annexes)

B. Interprétation

Elle est fait en fonction de la bande de contrôle 250bp et du niveau de migration de la deuxième bande : forme M 800bp et forme S 600bp.

3.7 Gestion et analyse des données

Les données étaient collectées sur des fiches de base. Les logiciels Epi-info 6, Excel et SPSS 11.0 de Windows ont été utilisés pour la saisie et l'analyse des données.

4. Résultats

4.1 Etude de la distribution des gîtes larvaires

4.1.1 Types de gîtes larvaires

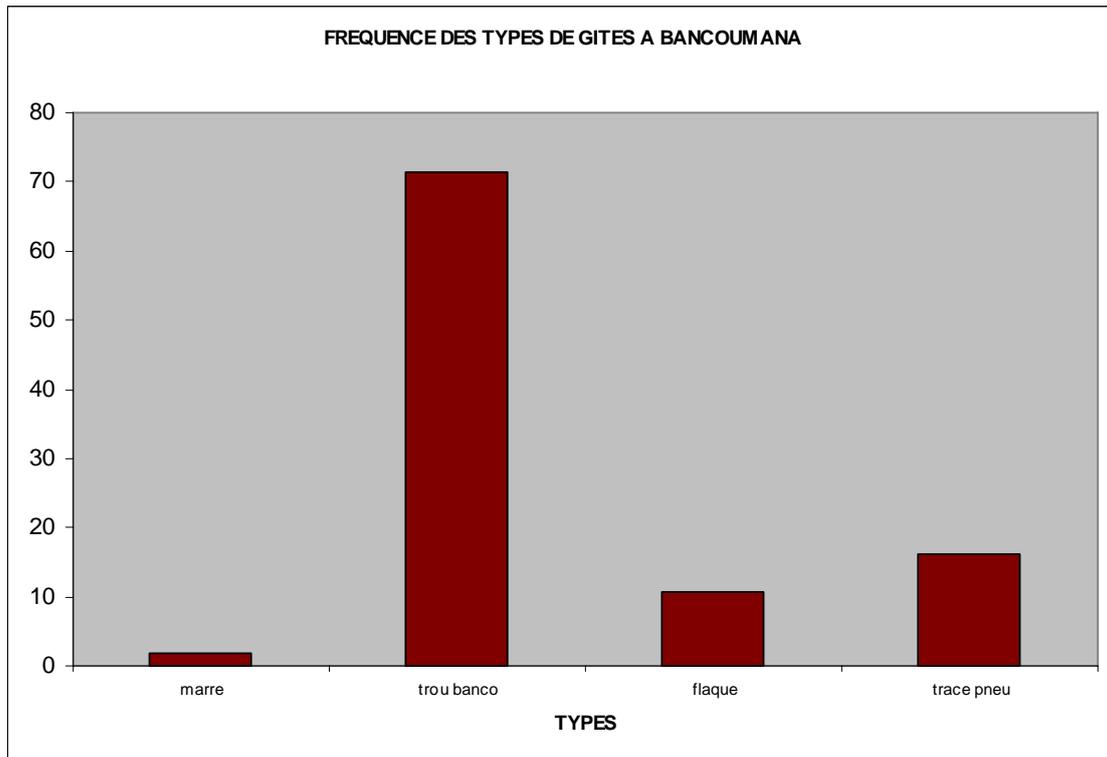


Figure 5: Répartition des gîtes larvaires par type, à Bancoumana entre mai 2004 et juin 2005.

Plus de 71,36% (N=653 observations) des gîtes de Bancoumana ont été des trous de banco creusés pour la construction et la rénovation en saison sèche des habitations humaines.

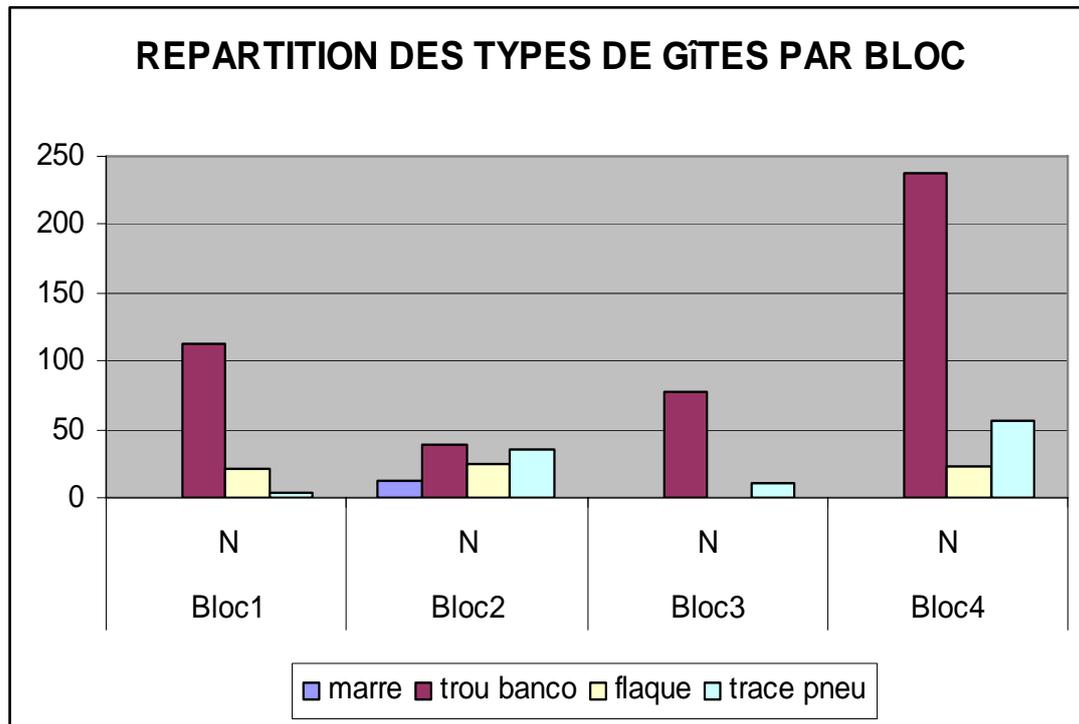


Figure 6: Répartition des types de gîtes par bloc à Bancoumana

Le bloc 4 a abrité le plus grand nombre (d'observations) de gîtes (316/ 653), suivit du bloc1 (138), du bloc 2 (110) et enfin du bloc 3 (89).

Les trous de banco ont été les plus fréquents dans tous les blocs.

Le bloc 2 a été le seul à abriter des marres.

4.1.2 Répartition des gîtes larvaires selon la présence d'eau

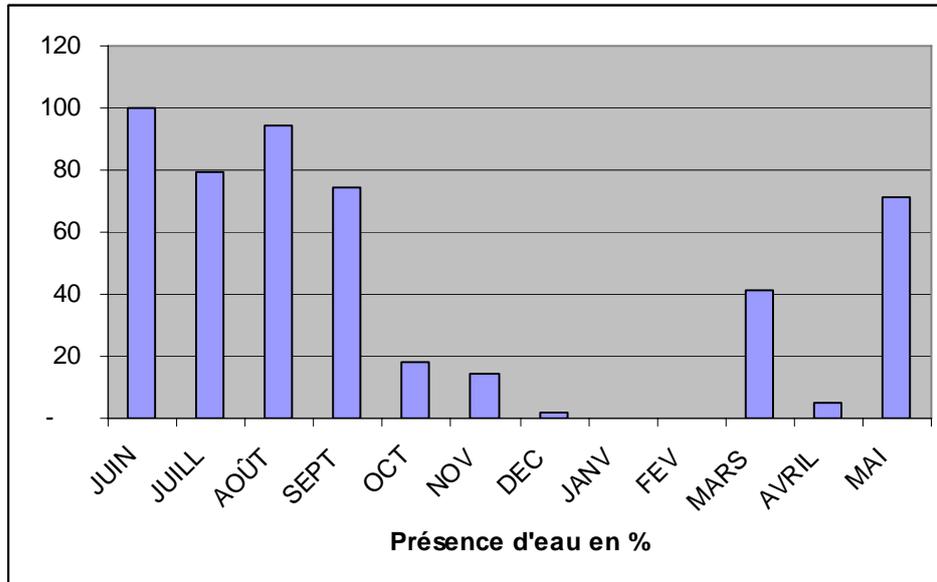


Figure 7: Variation mensuelle des gîtes selon la présence d'eau entre juin 2004 et mai 2005 à Bancoumana.

L'analyse de ce graphe révèle que la fréquence de gîtes a varié au cours de l'année. La plus grande a été observée au début de l'étude en juin 2004 (100% avec N=38).

Entre janvier et février 2005, tous les gîtes avaient taris. Par contre au mois de Mars nous avons observé de l'eau dans 41,27% (N= 63) des gîtes identifiés.

4.1.3 Distribution des gîtes selon la présence de larves

Tableau 1: La fréquence de larves d'*An gambiae s.l* en fonction du type de gîtes.

Type de gîte	Présence de Larves	
	N	%
marre	8	5,19
trou banco	101	65,58
flaque	21	13,64
trace pneu	24	15,58
Total	154	100

$\chi^2 = 14,69$ $P = 0,002$

Une variation statistiquement significative de la présence de larves par rapport aux types de gîtes a été observée ($X^2 = 14.69$ et $P < 0,05$). Les trous de banco ont été les plus fréquents et constituaient 65,58% de l'ensemble des gîtes productifs de Bancoumana.

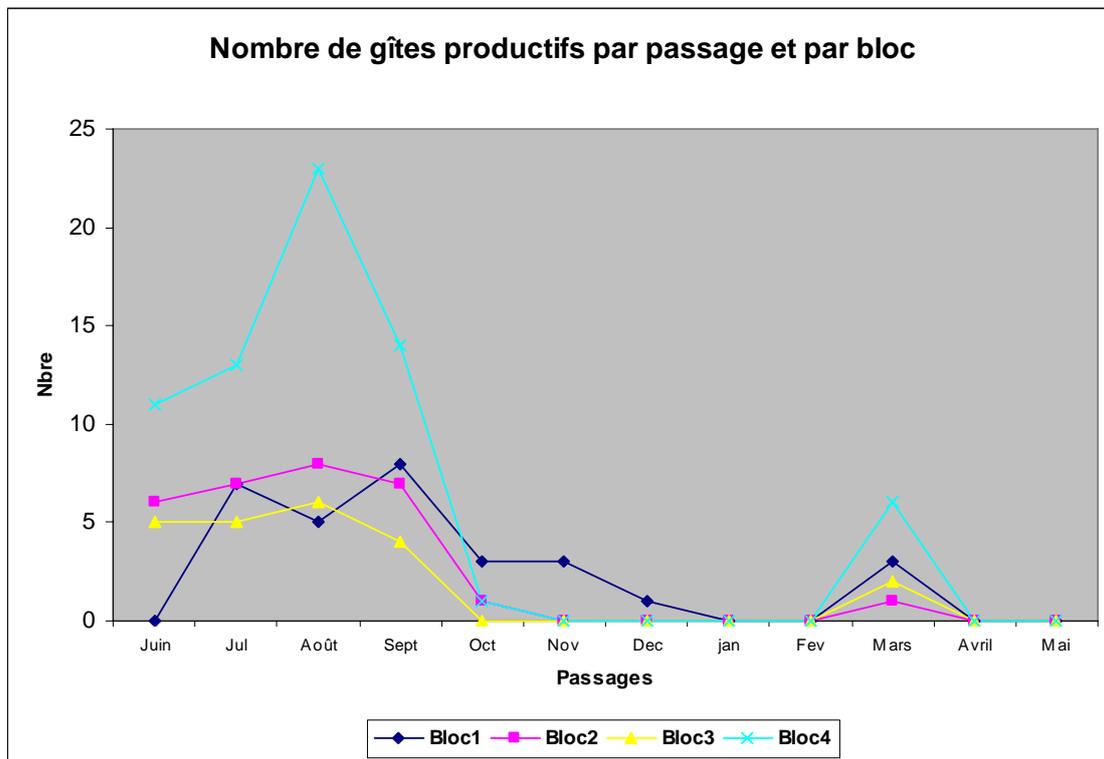


Figure 8: Distribution mensuelle par bloc des gîtes productifs de Bancoumana de juin 2004 à mai 2005.

Le bloc 4 a abrité le plus grand nombre de gîtes productifs, avec un pic en août et en mars. En novembre et décembre, seul le bloc 1 a abrité des gîtes productifs.

4.1.4 Productivité des gîtes selon la présence de végétation

Tableau 2 : Productivité des gîtes en fonction de la présence de végétation.

Végétation	Présence de larves	
	N	%
Absence	67	46.53
Présence	77	53.47
Total	144	100

$\chi^2=1,39$

$P=0,24$

Les gîtes avec végétation ont été légèrement plus productifs en larves d'*An gambiae s.l* avec 53.47% de production.

4.1.6 Productivité des gîtes selon leur taille

Tableau 4 : La fréquence de larves d'*An gambiae s.l* en fonction de la profondeur des gîtes de juin 2004 à mai 2005 à Bancoumana.

Profondeurs	Présence de larves	
	N	%
<25cm	113	75,33
25-50cm	29	19,33
>50	8	5,33
Total	150	100

$X^2 = 185,22$ P < 0,001

L'analyse de ce tableau révèle qu'il y a eu une différence statistiquement significative quant à la présence de larve par rapport aux variations de la profondeur des gîtes ($X^2 = 185,22$ et $P < 0,001$).

Les gîtes de petite profondeur (moins de 25cm), ont été plus productifs de larves d'*An. gambiae s.l* (75,33%).

Tableau 5 : La variation de la présence de larves d'*An gambiae s.l* en fonction du diamètre des gîtes.

Diamètre des gîtes	Présence de larves	
	N	%
<1m	10	6,67
1-5m	70	46.67
6-10m	30	20.00
>10m	40	26.67
Total	150	100
$\chi^2 = 66,67$		P < 0,001

L'analyse de ce tableau révèle qu'il y a eu une différence statistiquement significative entre la présence de larve et les variations du diamètre des gîtes ($\chi^2 = 66,67$ et P < 0,001).

Les gîtes de diamètres compris entre 1 et 5 m ont abrité plus de gîtes productifs (46,46%).

4.1.7 Productivité des gîtes selon l'aspect de l'eau

Tableau 6 : La fréquence de larves d'*An gambiae s.l* en fonction de l'aspect de l'eau des gîtes.

Larves	aspect de l'eau			
	clair		trouble	
	N	%	N	%
Absence	18	28,1	95	46,8
Présence	46	71,9	108	53,2
Total	64	100	203	100

$X^2=6,95$

$P=0,061$

Il y a eu une différence statistiquement non significative entre la présence de larves d'*An gambiae s.l* et l'aspect de l'eau des gîtes ($X^2=6,95$ et $P>0,05$)

Un plus grand nombre de gîtes ont contenu l'eau trouble (108). Par contre les gîtes aux eaux claires ont été plus productifs en larves d'*An gambiae s.l* (71,9%).

4.2 Etude des densités d'*An. gambiae s.l.*

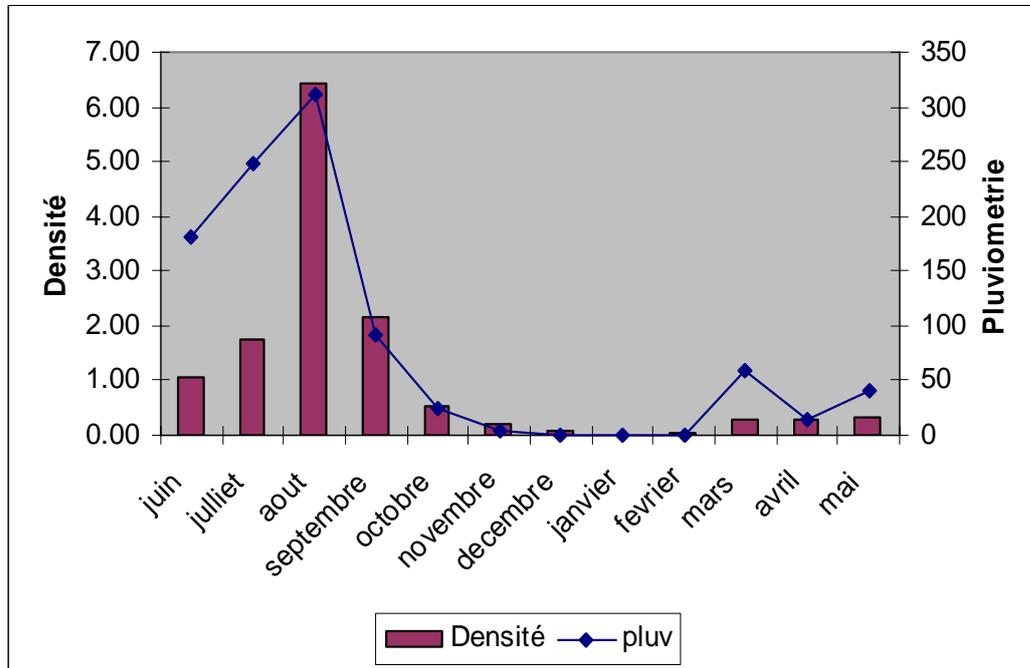


Figure 9: Variation mensuelle de la densité de la population adulte d'*An gambiae s.l* et de la pluviométrie (en mm) à Bancoumana de juin 2004 à mai 2005.

Une variation significative des densités et de la pluviométrie a été observée avec deux pics (en août et en mars). Les densités et les pluviométries ont été très faibles de décembre à février.

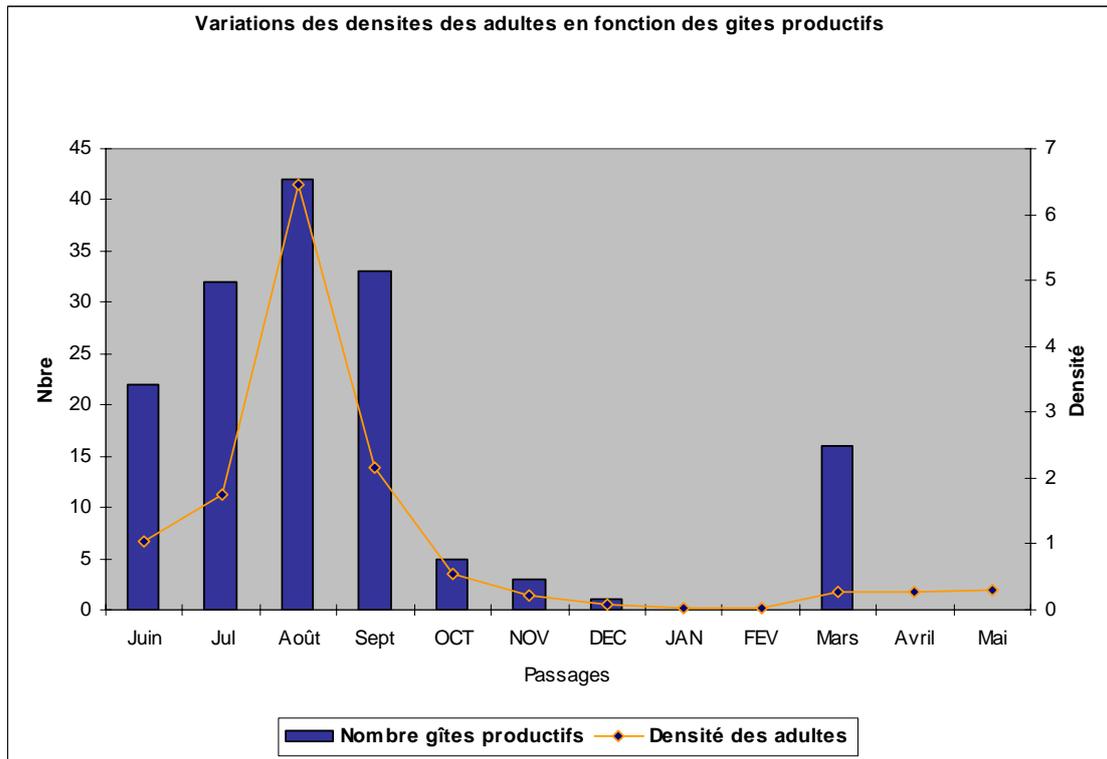


Figure 10: Variations mensuelles des densités de la population adulte d'*An. gambiae s.l* et du nombre de gîtes productifs à Bancoumana.

L'analyse de ce graphe révèle une variation mensuelle et un synchronisme entre le nombre de gîtes productifs et la densité des moustiques adultes.

Tableau 8 : Variation par bloc et par mois du nombre de moustiques capturés de juin 2004 à mai 2005 à Bancoumana.

mois de collecte	BLOC								TOTAL
	1		2		3		4		
	<i>N</i>	<i>STD</i>	<i>N</i>	<i>STD</i>	<i>N</i>	<i>STD</i>	<i>N</i>	<i>STD</i>	
JUIN	85	± 3,03	25	± 1,5	15	± 1,9	62	± 2,1	187
JUL	166	± 4,4	41	± 3,3	30	± 3,0	80	± 2,4	317
AOÛT	503	± 15,6	167	± 8,8	52	± 4,2	439	± 13,1	1161
SEPT	98	± 2,7	114	± 11,3	29	± 2,7	146	± 3,5	387
OCT	52	± 1,5	8	± 0,6	11	± 1,0	27	± 0,7	98
NOV	15	± 0,5	15	± 0,9	1	± 0,2	8	± 0,4	39
DEC	11	± 0,5	1	± 0,2	1	± 0,2	1	± 0,1	14
JAN	3	± 0,2	0	± 0,0	0	± 0,0	0	± 0,0	3
FEB	3	± 0,2	1	± 0,2	0	± 0,0	0	± 0,0	4
MARS	32	± 0,9	3	± 0,3	2	± 0,5	14	± 0,6	51
AVRIL	31	± 0,9	6	± 0,6	8	± 0,9	5	± 0,3	50
MAI	39	± 1,0	4	± 0,4	4	± 0,4	8	± 0,5	55
TOTAL	999	± 25,76	381	± 28,10	149	± 15,0	782	± 23,8	2311
Moyennes	83,3	± 2,1	31,8	± 2,3	12,4	± 1,2	65,2	± 2,0	192,6

L'analyse de ce tableau révèle une variation non seulement mensuelle, mais aussi inter bloc du nombre de moustiques adultes capturés. Ainsi, il était très élevé en août (N=1161) et faible en janvier (N=3) et février (N=4). Tous les moustiques adultes de janvier et février étaient du bloc 1 et 2 dont 6/7 du bloc 1.

4.3 Structure moléculaire

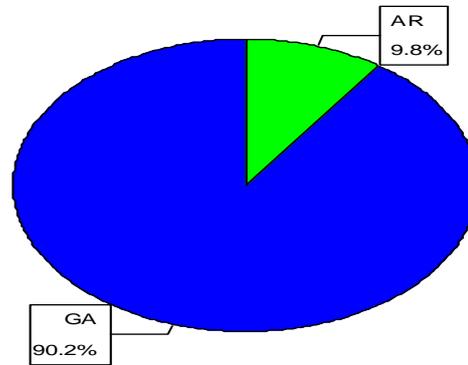
Tableau 9: La variation mensuelle des taux d'*An. arabiensis* et des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* chez les moustiques adultes à Bancoumana.

Mois	<i>Forme "M"</i>		<i>Forme "S"</i>		<i>An. Arabiensis</i>	
	N	%	N	%	N	%
DEC 04	3	100	0	0	0	0
JAN 05	1	100	0	0	0	0
FEB 05	2	100	0	0	0	0
MARS 05	15	68,18	2	9,09	5	22,73
AVRIL 05	40	81,63	3	6,12	6	12,24
MAI 04	33	78,57	2	4,08	7	14,29
Total	94	79	7	5,88	18	15,12

La forme moléculaire "M" d'*An. gambiae s.s* a été dominante (79%) de décembre 2004 à mai 2005. Il a été suivi par *An. arabiensis* (15,12%) et de la forme moléculaire "S" regroupant les formes chromosomiques Bamako et Savane (5,88%).

Entre décembre et février, seule la forme moléculaire "M" d'*An. gambiae s.s* a été retrouvée.

Formes pré-imaginales



Formes imaginales

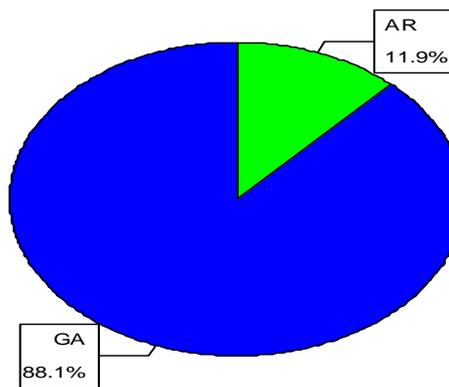


Figure 11 et 12: Fréquences relatives d'*An. gambiae s.s* et *An. arabiensis* des formes imaginales et pré-imaginales à Bancoumana entre décembre 2004 et mai 2005.

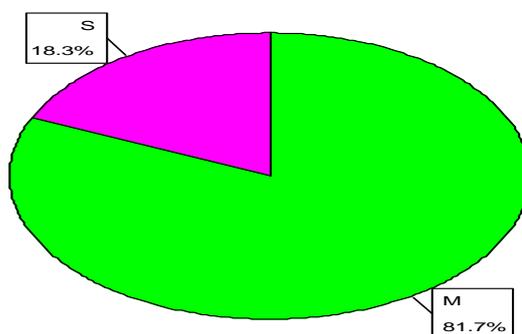
Ces graphes montrent une superposition des fréquences relatives d'*An. gambiae s.s* et d'*An. arabiensis* des formes imaginales et pré-imaginales. *An. gambiae s.s* a été dans les deux cas l'espèce dominante.

Tableau 10: Variations mensuelles des fréquences relatives d'*An. gambiae s.s* et *An. arabiensis* des formes imaginale et pré-imaginale à Bancoumana de décembre 2004 à mai 2005.

Mois	Formes imaginale				Formes pré-imaginale			
	<i>An. gambiae s.s</i>		<i>An. arabiensis</i>		<i>An. gambiae s.s</i>		<i>An. arabiensis</i>	
	N	%	N	%	N	%	N	%
DEC 04	3	100	0	0	27	84,4	5	15,6
JAN 05	1	100	0	0	34	82,9	7	17,1
FEB 05	2	100	0	0	40	100	0	0,0
MARS 05	17	77,3	5	22,7	95	82,6	20	17,4
AVRIL 05	43	87,8	6	12,2	96	93,5	2	6,5
MAI 05	35	78,6	7	21,4	30	96,8	1	3,2
Total	101	88,1	18	11,9	322	90,2	35	9,8

De décembre à mai, les formes imaginale et pré-imaginale d'*An. gambiae s.s* ont été dominante avec des proportions respectives de 88,1% et 90,20%.

Forme pré-imaginale



Formes imaginale

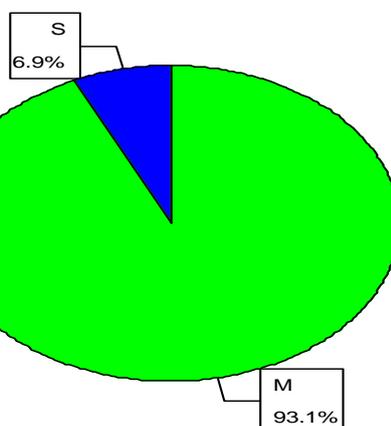


Figure 13 et 14: fréquence relative des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* des formes pré-imaginale et imaginale à Bancoumana de décembre 2004 à mai 2005.

Ces graphes montrent une fréquence relative de la forme moléculaire "S" d'*An. gambiae s.s* des formes pré-imaginale, un peu plus élevée que celle des formes imaginale. La forme moléculaire "M" a été dans les deux cas, dominante.

Tableau 11: Variations mensuelles des fréquences relatives des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* des formes imaginales et pré-imaginales à Bancoumana de décembre 2004 à mai 2005.

Mois	Formes imaginales				Formes pré-imaginales			
	Forme "M"		Forme "S"		Forme "M"		Forme "S"	
	N	%	N	%	N	%	N	%
DEC 04	3	100	0	0	12	44,4	15	55,6
JAN 05	1	100	0	0	15	44,1	19	55,9
FEB 05	2	100	0	0	39	97,5	1	2,5
MARS 05	15	68,2	2	9,1	61	87,1	9	12,9
AVRIL 05	40	81,6	3	6,1	58	93,5	4	6,5
MAI 05	33	78,6	2	4,1	30	78,6	0	21,4
Total	94	93,1	7	6,9	215	81,7	48	18,3

Le taux de prévalence des formes moléculaires "M" et "S" d'*An. gambiae s.s.* a varié significativement aussi bien pour les formes pré-imaginales ($X^2=130,80$ et $P<0,001$) que pour les formes imaginales ($X^2=3174,39$ et $P<0,001$).

Entre décembre 2004 et janvier, la forme moléculaire "M" d'*An. gambiae s.s* a été dominante pour les formes imaginales alors qu'elle ne l'a pas été pour les formes pré-imaginales.

5. Commentaires et discussion

5.1 Etude des gîtes

Au cours de notre période d'étude à Bancoumana, nous avons observé une variation temporelle et spatiale de la fréquence des gîtes larvaires. La fréquence la plus élevée a été observée en juin au début de l'étude et les plus faibles en janvier et février. Ces fréquences étaient synchrones à la pluviométrie.

Parmi les gîtes recensés à Bancoumana, 71,36% (N=653) ont été des trous de banco creusés pour la construction et la rénovation en saison sèche des habitations humaines.

Le bloc 4 est celui qui a abrité plus de gîtes pendant la durée de l'étude avec 48,4% (N=653) des gîtes recensés. La présence de gîtes en fin de saison sèche s'explique par la tombée exceptionnelle de 58mm de pluie en mars 2005.

Les trous de banco ont été également les plus productifs en larves d'*An gambiae s.l.* (65,58%) de l'ensemble des gîtes productifs (N= 154).

Ces résultats sont concordants avec ceux de John C Carlson *et coll.* en 2004 [22] qui avait trouvé au cours d'une étude qui s'est déroulée à l'Ouest du Kenya 37,73% de trous de banco laissés par la confection de briques, constituant 56,3% de tous les gîtes productifs. Cette étude du Kenya s'est déroulée seulement en saison sèche et a concerné 53 observations de gîtes alors que, la notre a couvert une année, avec 653 observations de gîtes.

Une variation temporelle et spatiale du nombre de gîtes productifs a été aussi observée. Ainsi le bloc 4 a abrité durant toute la saison pluvieuse (de juin à octobre), le plus grand nombre de gîtes productifs de larves (62/129). Ceci s'expliquerait par le fait que le bloc 4 constitue la zone d'extension du village et a abrité plus de trous de banco qui sont des gîtes temporaires.

Entre novembre et décembre, seul le bloc 1 situé le long du canal d'irrigation et de la plaine inondable a abrité des gîtes productifs.

Il n'y a pas eu de gîtes en janvier et février à l'intérieur du village et aux alentours proches. Seuls les gîtes du bord du fleuve situé à 5km ont été productifs en larves en cette période.

Ces résultats sont conformes à ceux de Fofana, qui stipulait qu'à Bancoumana lorsque le régime des pluies baisse, les gîtes secondaires (temporaires) se dessèchent et la production larvaire n'est plus assurée que par les semi permanents situés en dehors du village [23].

Ces résultats concordent avec les propos de D. Fontenille disant que « par la modification de son environnement et de son mode de vie, l'homme a lui-même créé, des gîtes favorables à *An. gambiae s.l* et les conditions de son expansion » [24].

Les gîtes avec végétation ont été légèrement plus productifs en larves d'*An gambiae s.l* avec 53,47% de production. Les gîtes avec prédateurs ont été légèrement moins productifs en larves avec 47,06% de production.

Ces résultats sont différents de ceux de John C Carlson *et coll.* en 2004 à l'ouest du Kenya [22] qui avait trouvé que, l'abondance de la végétation était synchronisée à l'abondance des prédateurs et négativement associée à la présence de larves.

Nous n'avons pas fait de corrélation entre la présence de larves et l'exposition à la lumière, du fait que, tous les gîtes qui ont été recensés au cours de notre période d'étude étaient exposés à la lumière. Ceci pourrait expliquer la très forte prédominance d'*An. gambiae s.l.* sur *An. funestus* à Bancoumana [13], qui préfère des gîtes ombragés [5].

Les gîtes de petite profondeur (moins de 25cm), ont été plus productifs de larves d'*An. gambiae s.l* (75,33%).

Les gîtes de diamètres compris entre 1 et 5 m ont abrité plus de gîtes productifs (46,67%).

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Yeya T. Touré en 1979 à Banambani [5].

L'eau claire a été plus productive de larves (avec 71,9% de production).

Ceci corrobore avec les résultats de Mahamoudou B. Touré *et coll.* [25] et Y. Touré *et coll.* [5], qui stipulaient que l'eau claire était plus favorable au développement des larves. Notons tout de même que l'eau trouble a abrité un plus grand nombre de gîtes productifs (108/154), confirmant encore la capacité d'*An. gambiae s.l* à s'adapter à différentes conditions.

5.2 Etude des densités d'*An. gambiae s.l.*

La densité moyenne au cours de notre étude a été de 1,10 moustiques/case/nuit. Le pic a été observé en août (6,45). Cette densité moyenne a été très faible en saison sèche fraîche notamment en janvier et février (0,02). Elle a augmenté au mois de mars (0,28). Cette augmentation de la densité en fin de saison sèche est attribuée aux 58mm de pluie exceptionnellement tombés en début du mois de mars 2005. Ces densités ont été synchronisées avec la fréquence des gîtes larvaires productifs. Une réduction de ces gîtes larvaires pourrait avoir un effet sur les densités anophéliennes.

Nous avons observé également une variation non seulement mensuelle mais aussi entre les blocs du nombre de moustiques adultes capturés. Ainsi, ce nombre a été très élevé en août (N=1161) et faible en janvier (N=3) et février (N=4). Tous les moustiques adultes de janvier et février ont été du bloc 1 et 2 dont 6/7 moustiques du bloc 1. Ceci pourrait s'expliquer par la proximité du bloc 1 au canal d'irrigation et au fleuve qui ont abrité les derniers gîtes après la saison des pluies ; Et aussi par le fait qu'*An. gambiae s.l.* occupe très souvent, les premières concessions qu'ils rencontrent après son émergence des gîtes.

Ces résultats rejoignent ceux de Bagayogo en 2000, qui affirma qu'« à Bancoumana, la transmission est faible en saison sèche et limitée aux concessions situées près du canal d'irrigation » [19]; et ceux de Ribeiro *et coll.* en 1996 qui avaient prouvé que, la distribution des densités d'*An. gambiae s.l.* variait dans le temps et dans l'espace à l'échelle d'un village éthiopien [26].

5.3 Caractérisation moléculaire d'*An. gambiae s.l.*

La forme moléculaire "M" d'*An. gambiae s.s.* a été dominante (79% avec N=124) de décembre 2004 à mai 2005. Il a été suivi par *An. arabiensis* (15,12%) et de la forme moléculaire "S" regroupant les formes chromosomiques Bamako et Savane (5,88%).

La variation de la fréquence relative des différents taxa du complexe *An. gambiae* des formes imaginaires étaient comparables à celle des formes pré imaginaires de février à mai 2005. Entre décembre et janvier la forme moléculaire "S" a prédominé par rapport aux autres taxa du complexe pour les formes pré-imaginaires. La non superposition entre les fréquences relatives des formes imaginaires et pré-imaginaires a été aussi observée par Minakawa *et coll.* en 1999 à l'Ouest du Kenya (Suba) [27]. Cet état de fait pourrait s'expliquer par la différence d'anthropophilie et d'endophilie entre les différents taxons du complexe *An. gambiae s.l.* [28].

La caractérisation moléculaire a une importance dans le choix des insecticides qu'il faudra utiliser pour une éventuelle lutte anti-vectorielle dans la localité.

6. Conclusion et recommandations

A la lumière de nos résultats, nous pouvons affirmer que la forme moléculaire Mopti d'*An. gambiae s.l.* a été la plus dominante de décembre 2004 à mai 2005, suivit par *An. arabiensis*. Leurs fréquences ont subi des variations mensuelles significatives au cours de la même période.

Les densités anophéliennes ont varié également de façon significative avec des densités très faibles en janvier et février 2005. Ces densités sont tributaires du nombre de gîtes productifs, lui aussi dépendant de la pluviométrie.

Parmi les gîtes productifs, les trous de banco laissés par la confection de briques de construction, ont été les plus nombreux. Les gîtes larvaires du canal d'irrigation et de la plaine inondable ont persisté jusqu'en décembre 2004. Seuls les gîtes du bord du fleuve ont persisté jusqu'à la tombée des premières pluies en mars 2005.

Les gîtes à eau claire, de petites profondeurs, de diamètres compris entre 1 et 5 m, avec végétation et sans prédateurs ont été préférentiels pour *An. gambiae s.l.* à Bancoumana.

Les gîtes du bord du fleuve ont assuré la permanence de production de moustiques pendant la saison sèche et serait impliquer dans les mécanismes de survie d'*An. gambiae s.l.*

De ces résultats, nous recommandons :

➤ Aux populations

De choisir un seul point de fabrication de briques de banco qui ferait l'objet de traitement périodique par larvicides ; et combler les autres petits gîtes (traces de pneus, flaques d'eau et autres trous de banco).

➤ Aux autorités

De sensibiliser la population par rapport au rôle que joue les gîtes artificiels dans la transmission du paludisme ;

De traiter pendant la saison sèche, les gîtes semi permanents et permanents, notamment ceux du canal d'irrigation, de la plaine inondable, et du bord du fleuve par les larvicides à faible toxicité pour les mammifères.

➤ Aux chercheurs

De mener des études de marquage par des substances fluorescentes pouvant confirmer ou infirmer que les rares moustiques capturés au moment où tous les gîtes de l'intérieur et des alentours du village tarissent, proviennent effectivement du bord du fleuve.

7. Bibliographie

1. Labro M.T., Bryskier A., 1988
Paludisme et médicaments.
2. OMS 1992
Grandes lignes du plan d'action de l'OMS pour la lutte contre le paludisme 1993-2000.
Conférence ministérielle, Amsterdam, 27 octobre 1992
3. Christian Lengeler, Martin Adjuik, Mangara Bagayogo, Fred Binka, Maurine Coetzee, Jonathan Cox, Marlies Craig, Uwe Deichman, Don de Savigny, Etienne Fondjo, Colleen Fraser, Eleanor Gouws, Imo Kleinschmidt, Pierre Lemardeley, Dave Le Sueur, Judy Omoumbo, Bob Snow, Brian Sharp, Frank Tanser, Thomas Teuscher, Yeya Touré, 1998.
Premier rapport technique de la collaboration MARA/ARMA.
MARA/ARMA, Durban 1998, P1-5
4. PNLP-Mali, Mars 2004.
Rapport de la collecte des données de base pour le suivi et l'évaluation des interventions de lutte contre le paludisme
5. Touré Y.T., 1979
Bioécologie des anophèles (Diptera, Culicidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft.
Thèse 3^{ème} cycle en biologie animale, option entomologie, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako, Mali.
6. Kitron U, Spielman A, 1989
Suppression of transmission of malaria through source reduction: antianopheline measures applied in Israel, United States and Italy.
Rev infect dis 11: 391-406
7. Zoumana Fané, 2001
Etude de la sporogonie et de la transmission naturelle de *Plasmodium falciparum* chez les membres du complexe *Anopheles gambiae* à Bancoumana, Mali.
Thèse de pharmacie de la FMPOS

- 8.** Charlwood J. D., Vij R. and Billingsley P.F., 2000
Dry season refugia of malaria-transmitting mosquitoes in a dry savannah zone of East Africa.
Am. J. Trop. Med. Hyg., **62**(6), 2000, P726–732
- 9.** Koenraadt Constantianus J.M., Paaijmans Krijn P, Githeko A.K., Knols Bart GJ and Takken Willem, 2003.
Egg hatching, larval movement and larval survival of the malaria vector *Anopheles gambiae* in desiccating habitats.
Malaria Journal 2003, **2**:20, P1-9.
- 10.** Koïta O., 1988
Epidémiologie du paludisme le long de la route trans-saharienne du Mali.
Thèse de pharmacie de l'ENMP P-26, 1988.
- 11.** Touré YT., Petrarca V. and Coluzzi M. 1984
Bioécologie et importance vectorielle des taxa du complexe *An. gambiae* au Mali.
IV^{ème} congrès sur la protection de la santé humaine et de des cultures en milieu tropical.
- 12.** Holstein M., 1949
Guide pratique de l'anophélisme en Afrique de l'Ouest Française (AOF).
- 13.** Amadou Hadiza K. Soumaïla, 2005
Etude de la transmission naturelle des plasmodies humaines par les membres du complexe *An. gambiae s.l* dans une zone soudanienne du Mali : Bancoumana, préfecture de Kati.
Mémoire de DEA de la FAST, option entomologie et parasitologie médicales.
- 14.** Kouriba B., 1993
Ecologie de la chloroquino-résistance au Mali: intérêt d'un test de détection des souches chloroquino-résistantes de *Plasmodium falciparum* par l'utilisation de l'Hydrogène tritué et le verapamil.
Thèse de Pharmacie de l'ENMP.

- 15.** OMS 2003, Guide du stagiaire
Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs
- 16.** Site Internet du programme national d'éradication du paludisme PNEP de Tunisie : www.malaria.tun
Lutte anti-vectorielle
- 17.** Site Internet : www.guyane-guide.com, 2005
Lutte anti-moustique
- 18.** Service M. W., 1993
Mosquito Ecology: Field Sampling Methods.
2nd Edition Elsevier Science Publishers LTD. London, P-988.
- 19.** Bagayogo M., 2000
Application des systèmes d'information géographique à l'étude micro épidémiologique de la transmission du paludisme à Bancoumana.
Thèse de doctorat de spécialité de l'ISFRA, option entomologie et parasitologie médicales.
- 20.** Scott J.A., Brogdon G., Collins F.H., 1993
Identification of single specimens of *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction.
Am. J. Trop Med. Hyg., 49(4), pp. 520-529
- 21.** Favia G., Lanfranconi A., Spanos L., Siden Kiamos I., Loius C., 2001
Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s.
Insect Mol Biol : 19-23
- 22.** John C. Carlson, Brian D. Byrd, Francois X. Omlin, 2004
Field assessments in western Kenya link malaria vectors to environmentally disturbed habitats during the dry season.
BMC public health 2004, 4:33 P-5

23. Fofana Mohamed, 1997

Variations spatiales et temporelles des formes pré-imaginale et imaginale des membres du complexe *An. gambiae* à Bancoumana, arrondissement de Sibi.

Mémoire de fin d'étude, ENSUP

24. Fontenille D. et coll., 2005

Vecteurs du paludisme : du terrain à la génétique moléculaire, recherches en Afrique.

Rev epidemiol santé publique 2005, 53 : 283-290

25. Touré Mahamoudou B., 2002

Analyse spatiale de la transmission du paludisme en zone de riziculture irriguée de Niono, Mali

Thèse de médecine de la FMPOS

26. Ribeiro J. M.C., Seulu F., Abose T., Kidane G., et Teklehaimnot, 1996

Temporal and spatial distribution of anopheline mosquitoes in an Ethiopian village: implications for malaria control strategies.

Bulletin of WHO, 1996 74(3): 299-305.

27. Minakawa Noboru, Clifford M. Mutero, John I. Githure, John C. Beier, and Guiyun Yan, 1999

Spatial distribution and habitat characterization of Anopheline mosquito larvae in western Kenya.

Am. J. Trop Med. Hyg., 61(6)1999, pp. 1010-1016

28. Highton R.B., Bryan J.H., Boreham P.F.L., Chandler J.A., 1979

Studies on the sibling species *An. gambiae* Giles and *An. arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae) in the Kisumu area, Kenya.

Bull Entomo Res 69 : 43-53

8. Annexes

8.1 Technique d'extraction de l'ADN

Elle a été faite sur les broyats de tête-thorax provenant de l'ELISA et aussi sur les larves collectées au niveau des gîtes. Elle a consisté à :

- écraser à l'aide de pilons stériles les larves contenues individuellement dans un tube eppendorf de 1,5ml contenant 50ul de grinding buffer. Les Tête-thorax étaient déjà broyées à l'ELISA ;
- incuber au bain-marie à 65°C pendant 30mn ;
- 7ul d'acétate de potassium à 8 Moles (PH = 7,4) ont été ajoutés à chaud, puis tapoter pour bien mélanger ;
- refroidir sur la glace (ou dans le réfrigérateur à 4°C) pendant 30 mn ;
- centrifuger à 14000 tours/mn pendant 15 mn et transférer le surnageant dans des tubes eppendorf contenant 100ul d'éthanol 100% ;
- laisser 5 à 10 mn à la température ambiante du laboratoire ;
- centrifuger à 14000 tours/mn en 15 mn et verser le surnageant sur papier buvard ;
- ajouter 100 ul d'éthanol à 70 % au frais ;
- tapoter pour re-suspendre le culot d'ADN ;
- centrifuger encore à 14000 tours/mn pendant 5 mn ;
- verser l'alcool et laisser sécher les tubes.

L'ADN extrait, peut être dissout soit dans 100 µl d'EDTA, soit dans 100 µl d'eau distillée stérile. L'ADN ainsi suspendu, peut être conservé dans un congélateur à - 70°C pendant une durée de 6 mois ou plus, à -20°C pour quelques semaines ou à 4°C pour une utilisation à court terme.

8.2 Paramètres d'amplification de l'ADN

8.2.1 Pour l'identification des espèces *An. arabiensis* et *An. gambiae*

L'amplification de nos échantillons a été faite par la PCR selon la technique de Scott *et al.* (1993) avec une révision des volumes du protocole standard. Les volumes retenus sont : 11µl de milieu réactionnel et 1µl d'ADN soit un volume total de 12µl (tableau 1).

Tableau 1. Concentrations des réactifs nécessaires à l'identification des espèces *An. arabiensis* et *An. gambiae s.s.*

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales
PCR buffer (tampon)	10 x	1 x
DNTP	10 mM	0,2 mM
MgCL2	50 mM	1,5 mM
Amorce GA	20 ng/μl	0,4 ng/μl
Amorce AR	20 ng/μl	0,4 ng/μl
Amorce UN	20 ng/μl	0,4 ng/μl
Taq Polymerase	5 U/μl	1U/μl

Cycle d'amplification

- Dénaturation : 94°C pendant 30 secondes ;
- Appariement : 50°C pendant 30 secondes ;
- Extension : 72°C pendant 30 secondes ;
- Ce cycle est répété 30 fois.

Séquence nucléotidique des différentes amorces pour l'identification des espèces

AG (*gambiae*) 5' CTGGTTTGGTTCGGCACGTTT 3'
 AR (*arabiensis*) 5' AAGTGTCCTTCTCCATCCTA 3'
 UN (universel) 5' GTGTGCCCTTCCTCGATGT 3'

8.2.2 Pour l'identification des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s*

Nous avons amplifié nos échantillons par la PCR en prenant 24μl du milieu réactionnel et 1μl d'ADN soit un volume total de 25μl (voir tableau 2).

Tableau 2. Concentrations des différents réactifs nécessaires à l'identification des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s.*

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales
PCR Buffer	10 x	1 x
DNTP	10 x	2x
Mgcl2	10 mM	1,5 mM
For	100 µM/µl	2 µM2
Rev	100 µM/µl	2 µM2
Amorce Mopti	100 µM/µl	1,6 µM
Amorce B/S	100 µM/µl	1µM/µl
Taq polymerase	5 U/µl	0.05 U/µl

Cycle d'amplification :

- 94°C pendant 10 mn
 - dénaturation : 94°C pendant 30 s
 - appariement 65°C pendant 30 s
 - extension : 72°C pendant 30 s
 - 72°C pendant 7 mn
- } 24 cycles à partir de l'étape 2

Conservation à 4°C

Séquences nucléotidiques des amorces utilisées

Amorce For (allée): 5'-GCCAATCCGAGCTGATAGCGC-3'

Amorce Rev (retour): 5'- CGAATTCTAGGGAGCTCCAG-3'

Amorce Mopti : 5'-GCCCCTTCCTCGATGGCAT-3'

Amorce B/S : 5'-ACCAAGATGGTTCGTTGC-3'

Nom: Maïga

Prénom: Mamoudou

Titre : Distribution spatio-temporelle des gîtes larvaires et la caractérisation moléculaire du complexe *An. gambiae s.l* dans le village de Bancoumana, Mali

Année de soutenance : 2006

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Secteur d'intérêt : Entomologie et parasitologie médicales

Résumé

De juin 2004 à mai 2005, une étude s'est déroulée à Bancoumana au bord du fleuve Niger et à 60 Km au Sud-ouest de Bamako sur les gîtes larvaires et la caractérisation moléculaire d'*An gambiae s.l*.

Tous les gîtes de l'intérieur et autour du village ont été répertoriés géo-positionnés et caractérisés tous les mois. Le spray catch a été utilisé pour capturer des moustiques adultes tous les mois, dans 180 cases repartis dans 4 blocs. Les larves et les adultes d'*An gambiae* ont été identifiés à la PCR.

Les trous de banco ont représenté 68,58% des gîtes productifs de larves.

Entre janvier et février, seuls les gîtes du bord du fleuve n'avaient pas disparu.

Les cases à *An. gambiae s.l* en saison sèche ont été celles situées le long du fleuve.

De décembre à mai la forme moléculaire Mopti d'*An. gambiae s.s* (79%) a été dominante, suivie d'*An. arabiensis* (15,12%) et de la forme moléculaire S (5,88%).

Ces données doivent être prises en compte pour l'élaboration dans ce village d'une stratégie de lutte contre le paludisme basée sur le contrôle des vecteurs.

Mots clés: *An. gambiae s.l*, gîtes larvaires, stratégie de contrôle

First name: Maïga

Surname: Mamoudou

Title: Spatial and temporal distribution of breeding sites and molecular characterization of *An. gambiae s.l.* in the village of Bancoumana, Mali

Date: 2006

City: Bamako

Country: Mali

Depository: Bookcase of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology

Area of interest: Medical entomology and parasitology

Abstract

A study on larval habitats and molecular characterization of *An. gambiae s.l.* was conducted in the village of Bancoumana from June 2004 to May 2005.

All breeding sites inside and outside of the village were sampled, geopositioned and characterized all months.

Adults mosquitoes were collected by Pyrethrum Spray catch methods in 180 cases in the four blocks of Bancoumana each month.

Individual mosquitoes, larvae and adults, were molecularly identified by PCR.

All the breeding sites around and within, the village were dry in January and February. Only the ones found at borders of the river contained larvae.

Brick making sites constituted 68.58% of the larvae productive breeding sites.

From December to February, only river breeding sites contained larvae.

From December to May the data showed that *An. gambiae s.l.* were composed of 79% of the molecular form M of *An. gambiae s.s.*, 15.12% of *An. Arabiensis* and 5.88% of the molecular form S of *An. gambiae s.s.*

This study provides invaluable information for a more targeted control strategy.

Key words: *An. gambiae s.l.*, breeding sites, control strategy

SERMENT D'HIPPOCRATE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Je le jure !