

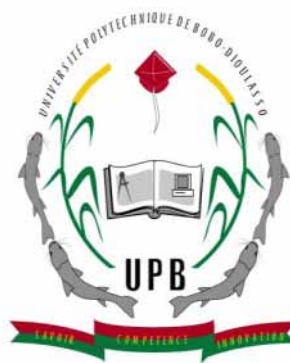
MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE ET SUPERIEUR

SECRETARIAT GENERAL

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE
DE BOBO-DIOULASSO

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE
LA SANTE (ED- SDS)

FORMATION DOCTORALE EN
PARASITOLOGIE MEDICALE



BURKINA FASO
Unité-Progrès -Justice

Année académique 2015-2016

Mémoire N°14

Titre:

Etude comparative des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de la filariose lymphatique obtenus avec les tentes pièges Ifakara de type C et la capture sur appât humain dans une zone nord soudanienne du Mali

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le 10/11/ 2015

Pour l'obtention du **diplôme de Master en Parasitologie-Entomologie-Mycologie médicales**

Par

M. DOLO Mamadou

JURY

Directeur

M. DABIRE K. Roch
Directeur de Recherche, IRSS/CNRST
Bobo- Dioulasso

Président: M. GUIGUEMDE Tinga Robert
Professeur titulaire, INSSA/UPB

Co - Directeur

M. COULIBALY Yaya. I
Attaché de recherche au Malaria Research
and Training Center de Bamako

Membres: M. RAYAISSE Jean-Baptiste
Chargé de recherche, CIRDES

M. DABIRE K. Roch, IRSS/CNRST, Bobo- Dioulasso

Dédicaces:

Je rends grâce à Dieu de m'avoir donné la santé et le courage nécessaires pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail:

A ma tante Yabara dite Anta Dolo in Memoriam

A mon père feu Dounorou Dolo

Pour toi père, ma volonté d'homme était de te voir parmi ce monde assis ici aujourd'hui pour voir le résultat de vos innombrables encouragements et tous les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et mon bien-être, mais le bon Dieu en a décidé autrement.

De ton vivant ton souhait a été toujours de nous voir réussir à l'école et voici aujourd'hui le résultat de tous tes efforts consentis à ma faveur. Que Dieu le miséricorde te pardonne et qu'il t'accepte au près de lui.

A ma mère Aïssata Dolo

Tu es pour moi la bonne mère que j'ai aimée et aimerai toujours. Chère maman, tu as été la femme soumise et la mère soucieuse de l'avenir de ses enfants. Maman enseignante à domicile quand il s'agissait de rehausser le niveau de ses enfants.

Que le tout puissant te prête longue vie pour nous assister.

Chère mère, tes conseils comme à savoir "la patience est un chemin d'or", "l'union fait la force" resteront gravés en nous.

A mes oncles paternels: Vos conseils et soutiens ne m'ont jamais fait défaut. Recevez toute ma reconnaissance et mes salutations. Que Dieu vous bénisse ainsi que vos familles.

A mes oncles maternels et leurs familles

Djougale dit Moussa Dolo, Dogodjougale Dolo, feu Atémou dit Sékou Dolo, Kinbassa dit Souleymane Dolo, merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté. Que Dieu bénisse vous et les vôtres.

A mon tuteur

Baissembé Dolo et famille, vos soutiens, conseils m'ont beaucoup aidé. Que Dieu soit votre guide

A mes frères et cousins

Amadou dit Amagolou Dolo, Menagalou Dolo, Laya Abô Dolo, Daouda dit ATT Dolo, Boureïma dit souring Dolo, Seydou Dolo, Souleymane Dolo, Hama Dolo, Ambadingué K Djiguiba; merci pour tout le soutien et que le tout puissant soit votre guide éternel.

A mes soeurs et cousines:

Anta Sagara, Kadidia Dolo, Ténoubèrè Dolo, Salimata Dolo, Inéssou Dolo, Fatoumata Dolo dite Batoma, Yaponron dite Ina Dolo, Hawa dite Ninè Dolo, Habiba Dolo, Mah Dolo, Tenin Dolo, Fanta Dolo, Yasséguerema dite Maman Ouologuem, Hawa Dicko et toutes celles qui ne verront leurs noms dans cette méditation, merci pour tout le soutien, que Dieu les assiste dans les études et l'éducation de leurs enfants.

A mes neveux et nièces de Bandiagara, Bamako, et du Burkina Faso. Merci pour la courtoisie et les bons moments passés avec vous. Chers enfants bon courage dans les études.

A la famille Maïga au 3^{ème} quartier de Bandiagara

Mon amitié avec votre fils a été une source de parenté entre les deux familles Dolo et Maïga. Que Dieu bénisse nos relations et qu'il nous en donne le bonheur.

Aux familles Millogo et Sirima à Bobo- Dioulasso, merci pour m'avoir bien accueilli à Bobo. Que Dieu vous bénisse.

A Hamadoum Togo et famille à Ouagadougou, merci pour le soutien financier et moral. Que Dieu bénisse vos enfants

A la 3^{ème} promotion du Master de parasitologie de l'école doctorale des sciences de la santé, merci pour la courtoisie et les bons moments passés avec vous.

Remerciements:

Par la grâce d'ALLAH

Le tout Puissant, le tout Miséricordieux et le très Miséricordieux qui a guidé mes pas jusqu'à ce jour, et en qui je place tout mon espoir ici-bas et dans l'au-delà.

Au Nom du Prophète MOUHAMED (Paix et Salut sur Lui).

Mes remerciements vont à toutes celles et à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Je tiens à remercier:

Les familles: Dolo, Ouologuem, et Traoré. Merci pour votre sympathie. Que Dieu vous bénisse.

Mes amis: Moussa Yehia Maïga, Fatoumata Koïta, Hamidou Tapily, Souleymane Ouologuem, Douro Djiguiba, Gonogo Doumbo, Nouhoum Dibo, Ousmane Ongoïba, Ousmane Sangaré, Amadingué Dolo et collaborateurs, Merci pour votre disponibilité et vos soutiens dans toutes les circonstances. Ce travail est aussi le résultat de vos efforts conjugués.

Toute l'équipe de l'Unité Filariose du MRTC : Dr Yaya I Coulibaly, Dr Housseini Dolo, Dr Siaka Y Coulibaly, Dr Modibo Sangaré, Dr Salif S Doumbia, Dr Ilo Dicko, Dr Moussa B Sangaré, M. Abdallah A Diallo, M. Lamine Soumaoro, M. Michel E Coulibaly, Dr Sory I Fomba, et M. Floribert. Plus qu'une Unité de travail, nous nous croyons en famille. Merci de m'avoir accepté parmi vous, merci de la formation et du très bon traitement reçus. Je ne vous oublierai jamais.

Mes très chers maîtres du MRTC/DEAP/FMOS/FAPH notamment le Dr Coulibaly Yaya Ibrahim : Cher maître, ce fût pour moi un honneur d'apprendre à vos côtés et d'avoir votre confiance. Docteur Coulibaly, permettez-moi ici de vous demander pardon pour toutes les fois où je n'ai pas été à la hauteur de vos attentes. Nul n'est parfait.

Je vous prie de trouver ici chers maîtres, le témoignage de mon profond respect et estime.

Mes très chers maîtres et Membres du jury

Professeur Tinga Robert Guiguemdé, Directeur de l'Institut Supérieur des

Sciences de la Santé (IN.S.SA), pour l'opportunité qu'il m'a offerte à travers ce master, d'approfondir mes connaissances. C'est un grand honneur que vous nous faites en présidant ce jury malgré vos multiples occupations. Votre modestie, votre rigueur scientifique, votre amour pour le travail bien fait, font de vous un maître exemplaire et apprécié de tous. Veuillez accepter cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

Professeur Dabiré Roch K, c'est avec abnégation que vous avez accepté de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités exceptionnelles d'enseignant et de chercheur font de vous un maître admiré de tous. Veuillez trouver ici cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

Docteur Rayaisse Jean-Baptiste, je tiens à vous témoigner ma reconnaissance et ma gratitude pour avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

Nos partenaires du NIH : Dr Amy Klion, Dr Thomas B. Nutman, Dr Simon Metenou. Ce travail est le vôtre.

Les informaticiens du MRTC/DEAP: M. Sidy Soumaré, M. Mady Diarra, M. Amadou Diallo et Mme Soumaré Salimata Traoré et M. Issa Bâ, merci pour votre constante disponibilité.

Les chauffeurs et les manœuvres du MRTC/DEAP, merci.

Tous les volontaires, les chefs de villages et autres leaders des sites d'étude

Sans vous, le présent document n'aurait pas vu le jour.

A tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à la réussite de mes études et de ce travail. Je vous dis merci.

SOMMAIRE

I. Introduction.....	1
1.1. Enoncé du problème.....	3
1.2. Question de recherche	4
1.3. Hypothèse de recherche	4
II. Objectifs de l'étude.....	6
2-1. Objectif général.....	6
2-2. Objectifs spécifiques.....	6
III. Généralités.....	8
3.1. Le Paludisme	8
3.2. La Filariose Lymphatique (FL)	11
3.3. Les Vecteurs du paludisme et de la FL	14
3.4. Les Méthodes de capture les plus utilisées en Afrique	18
IV. Matériel et Méthodes	27
4.1. Type et période d'étude.....	27
4.2. Site d'étude.....	27
4.3. Echantillonnage	28
4.5. Saisie, analyse et collecte des données.....	29
4.6. Les aspects éthiques	30
V. Résultats	33
VI. Discussion	41
VII. Conclusion-Perspectives.....	45
VIII. Références Bibliographiques.....	47
IX. Annexes.....	ii

Abréviations et sigles

ADN: Acide Désoxyribonucléique

An.: *Anopheles*

BGS: *Biogent sentinel*

B. malayi: *Brugia malayi*

B. timori: *Brugia timori*

CSH : Capture sur Homme (capture sur appât humain)

CDC: *Centers for Disease Control*

EDSM-V : Enquête Démographique et la Santé du Mali V

FL: Filariose lymphatique

ICT: *Immuno- chromatographic card test*

L1 : Larve de stade 1

L2 : Larve de stade 2

L3 : Larve de stade 3

MILDA : Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action

MRTC: *Malaria Research and Training Center* (Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme)

mf: microfilaire

NIH: *National Institute of Health*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P. falciparum : *Plasmodium falciparum*

PHN : Piquêre par homme et par nuit

PMEFL : Programme Mondial d'Élimination de la Filariose Lymphatique

PNEFL : Programme National d'Élimination de la Filariose Lymphatique

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

RBM: *Roll Back Malaria*

RT-PCR: *Real Times- Polymerase Chain reaction*

s.l : *sensu lato*

s.s : *sensu stricto*

TDM : Traitement de masse

TI : Taux d'infection

TIE : Taux d'inoculation entomologique

TITC: Tente Ifakara Type C

W. bancrofti: *Wuchereria bancrofti*

Liste des Figures

Figure 1: Cycle biologique de <i>Plasmodium</i>	10
Figure 2: Cycle de <i>Wuchereria bancrofti</i>	13
Figure 3: Morphologie générale des <i>Culicidae</i> adultes.....	15
Figure 4: Cycle de développement des anophèles	17
Figure 5 : Volontaire en capture.....	19
Figure 6 : Piège lumineux CDC	20
Figure 7: Piège biogents sentinel	21
Figure 8 : Piège externe de sortie	22
Figure 9 : Tente Ifakara Type C	23
Figure 10: Piège OBET	24
Figure 11 : Prélèvement dans une étable à l'aide d'aspirateurs mécaniques	25
Figure 12 : Carte du Mali montrant le site d'étude	27
Figure 13: Corrélation entre le nombre de spécimens <i>d'An. gambiae s.l.</i> collectés par les CSH et les TITC d'août à octobre 2013 à Tiénéguebougou	35
Figure 14: Variation de l'agressivité moyenne mensuelle <i>d'An. gambiae s.l.</i> par mois de collecte selon les méthodes de capture.....	36

Liste des tableaux

Tableau I : Variation mensuelle de la densité d' <i>An. gambiae s.l.</i> en fonction des techniques de collecte	33
Tableau II : Variation des taux de parturité en fonction du type de capture et du mois de capture des anophèles.....	34
Tableau III: Variation du taux d'infection à <i>W. bancrofti</i> chez <i>An. gambiae s.l.</i> par mois de collecte selon les deux méthodes de capture à l'analyse en <i>pool screening</i>	37
Tableau IV: Variation du taux d'infection à <i>P. falciparum</i> parmi les <i>An. gambiae s.l.</i> par mois de collecte selon les deux méthodes de capture à l'analyse en <i>pool screening</i>	38
Tableau V: Variation du taux de co-infection à <i>W. bancrofti</i> et <i>P. falciparum</i> chez <i>An. gambiae s.l.</i> par mois de collecte selon les deux méthodes de capture à l'analyse en <i>pool screening</i>	39

Résumé

La filariose lymphatique (FL) est une maladie tropicale négligée en voie d'élimination au Mali. Le paludisme est hyper-endémique dans plusieurs régions du Mali où il constitue un grave problème de santé publique. La lutte anti-vectorielle à l'instar de la chimio-prophylaxie est utilisée comme un outil de prévention contre ces deux maladies à transmission vectorielle. A cet effet le village de Tiénéguebougou au nord du Mali a connu huit (8) campagnes de traitements de masse (TDM) pour la FL à base d'ivermectine et d'albendazole et aussi une distribution de moustiquaires imprégnées d'insecticide dans le cadre de la couverture universelle en MILDA (Moustiquaire imprégnée à longue durée d'action) pour la lutte anti-vectorielle. La méthode de capture sur appât humain (CSH) demeure la meilleure technique pour les études entomologiques. Cette méthode a cependant des inconvénients du fait de l'exposition des volontaires durant toute la séance de capture de moustiques. La tente Ifakara Type C (TITC) est une méthode de collecte des moustiques qui avait été comparée à la méthode CSH dans une étude à Sikasso (zone à forte densité vectorielle) en 2011 (Coulibaly et al, 2012). Aucune étude similaire n'avait été menée au Nord (zone à faible densité vectorielle) du Mali. Nous avons ainsi entrepris une étude comparative des deux méthodes de collecte (CSH et TITC) de vecteurs dans le village de Tiénéguebougou afin de déterminer la capacité du TITC à fournir les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de la FL dans l'optique de l'utiliser comme une méthode alternative à la CSH. Sur 1516 *An. gambiae s.l.* collectés d'Août à Octobre 2013, 1089 ont été capturés par la technique de la CSH contre 427 par la méthode TITC. Il y avait une corrélation positive significative entre le nombre d'*An gambiae s.l.* capturé par la méthode CSH et celui capturé par la méthode TITC ($r= 0,69$; $p= 0,003$). Nous pouvons dire que les tendances sont les mêmes entre les deux techniques même si le nombre de moustique collectés n'est pas égal et que la TITC pourrait être une bonne alternative à la CSH.

La TITC semble être une bonne méthode de collecte alternative à la CSH car elle est sensible et protégerait mieux les captureurs. Ce piège qui ne demande pas de personne qualifiée peut être un outil d'échantillonnage utile pour la surveillance de routine des moustiques vecteurs de la FL et du paludisme.

Mots-clef: Paludisme; Filariose lymphatique; TITC; CSH; *An. gambiae s.l.*; Tiénéguebougou

Abstract

Lymphatic Filariasis (LF) is a neglected tropical disease being eliminated in Mali. Malaria is a serious public health problem and is hyper-endemic in several regions of Mali. The vector control and chemo-prophylaxis are used as preventive tools against these two vector-borne diseases (LF and Malaria). Tiénéguebougou village in northern Mali has received eight (8) mass drug administration (MDA) with ivermectin and albendazole for LF and insecticide-treated nets have also been distributing as part of universal coverage (mosquito net impregnated long acting) for vector control. The human landing catch (HLC) is the best technique for entomological studies. However, this method has drawbacks because of the exposure of volunteers throughout the mosquitoes catching. The Ifakara Tent Trap C (ITTC) is a method of collecting mosquitoes that had been compared to the HLC method in a study in Sikasso with a high vector density area in 2011 (Coulibaly *et al.*, 2012). No similar study had been conducted in the North of Mali with a low vector density area. We did a comparative study of the two methods of collection (HLC and ITTC) vectors in the village of Tiénéguebougou to determine ITTC ability to provide entomological parameters of the transmission of malaria and LF in the context of use as an alternative method to the HLC. About 1516 *An. gambiae s.l.* collected from August to October 2013, 1089 were captured by the HLC against 427 ITTC.

There was a significant positive correlation between the number of *An. gambiae s.l.* captured by the HLC and the ITTC ($r= 0.69$; $p= 0.003$). Trends were similar between the two techniques even if the number of mosquito is collected was not equal. Moreover, the ITTC could be a good alternative to the HLC for entomological studies. The ITTC seems to be a good alternative collection method to the HLC because it is sensitive and protects better the mosquitoes catchers.

This trap that does not request qualified persons can be a useful tool for routine mosquitoes sampling to monitor malaria and LF vectors.

Keywords: Malaria; Lymphatic Filariasis; Ifakara Tent Trap C; human landing catch; *An. gambiae s.l.*; Tiénéguebougou.

INTRODUCTION

I. Introduction

Le paludisme est la première maladie parasitaire qui constitue un fléau mondial par sa morbidité et sa mortalité. Il se transmet par la piqûre infectante du moustique femelle du genre *Anopheles*. Il existe quatre espèces plasmodiales pathogènes pour l'Homme: *Plasmodium falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, et *P. vivax*. Cependant, *P. knowlesi*, qui était jusque-là connue comme un agent pathogène pour le singe, a été découvert chez l'Homme en Asie du sud-est (Singh et al., 2004; Ong et al., 2009).

Selon le rapport de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2014, on estime à 3,2 milliards, le nombre de personnes qui continuaient d'être exposées au risque du paludisme en 2013, principalement en Afrique et en Asie du sud-est avec 90% des cas de paludisme en Afrique.

La filariose lymphatique (FL) est une autre maladie parasitaire due à des vers du genre *Wuchereria* (*W. bancrofti*), *Brugia* (*B. malayi* et *B. timori*). Ces parasites sont transmis d'une personne à une autre par des moustiques du genre *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* et *Mansonia* (Gerusa et al., 2003). La FL est l'une des causes majeures d'invalidité dans les zones tropicales avec près de 120 millions de personnes à risque d'infection dans le monde (Walther et al., 2005). La plupart des cas de FL dans le monde et tous les cas de FL en Afrique sont dus au nématode *W. bancrofti* (Ottessen et al., 1997). Sur le plan mondial, le paludisme et la FL à *W. bancrofti* comptent parmi les maladies parasitaires tropicales à transmission vectorielle les plus ubiquitaires (Ernst et al., 2003; Ephantus et al., 2008) constituant ainsi une priorité pour les programmes de lutte.

La FL et le paludisme sont co-endémiques dans de nombreuses régions tropicales et partagent dans certaines régions les mêmes vecteurs (Burkot et al., 1990; Chadee et al., 2003; Kelly-Hope et al., 2006) comme c'est le cas au Mali.

En effet au Mali, le paludisme demeure l'endémie majeure et la première cause de morbidité et de mortalité (PNLP, 2010; RBM, 2008). Les espèces plasmodiales les plus fréquemment rencontrées sont *P. falciparum* (plus de 85%), *P. malariae* (10-15%) et *P. ovale* (1%) (Doumbo et al., 1991). Et un cas de paludisme à *P. vivax* a été rapporté au Nord du pays (Koïta, 1988).

De même, selon le Programme National d'Élimination de la FL (PNEFL) du Mali, la prévalence nationale moyenne de la FL obtenue par les tests de diagnostic rapide à base de carte immuno-chromatographique (ICT) était de 7,07% en 2004 avec une répartition géographique variable. En effet, elle était de 1% à Tombouctou au Nord du pays et de 18,6% à Sikasso au Sud du pays.

Au Mali, la FL à *W. bancrofti* et le paludisme à *P. falciparum* sont transmis par *An. gambiae s.l.* et *An. funestus* (Touré, 1982) et sont endémiques dans plusieurs régions.

La co-infection humaine est fréquente pendant la saison de transmission du paludisme (Konaté 2008, données non publiées).

Dans le cadre de la lutte anti-vectorielle, plusieurs méthodes de captures de moustiques ont été utilisées pour évaluer les paramètres entomologiques de la transmission des pathogènes au cours du contact hôte-vecteur (Kelly-Hope et al., 2009). La CSH pour le cas des anophèles toujours nocturnes et les pièges lumineux des centres de contrôle des maladies (the *Centers for Disease Control*, CDC) ont tous des avantages et des limites (Kelly-Hope et al., 2009; Le Goff et al., 1993).

La méthode CSH reste toujours la méthode la plus efficace en entomologie pour la capture des moustiques (Wong et al., 2013), mais, elle expose directement et de façon délibérée les captureurs aux piqûres de moustiques infectés soit par des parasites soit par des virus et par d'autres agents infectieux (Overgaard et al., 2012). Elle est par conséquent de plus en plus mal acceptée pour des raisons éthiques entraînant un refus des comités d'éthiques à approuver des protocoles qui prévoient d'en faire usage (Ndebele et al., 2012).

Les pièges lumineux CDC sont les plus couramment utilisés pour l'échantillonnage dans le cadre des études des vecteurs du paludisme en Afrique (Overgaard et al., 2012; Sudia, 1962). L'inconvénient de ce piège est qu'il tue et assèche les moustiques, rendant difficile leur dissection afin d'isoler les glandes salivaires pour la recherche microscopique des sporozoïtes (Le Goff et al., 1993).

La TITC est une tente qui mesure deux (2) mètres de long et un (1) mètre de large dans laquelle peut dormir un homme. Ce piège comporte six (6) fenêtres sous forme d'entonnoirs comme entrées pour les moustiques qui y sont piégés et a pour avantage de protéger le sujet qui y dort à l'intérieur par une moustiquaire malgré que les moustiques soient attirés par son odeur.

1.1. Enoncé du problème

La CSH est considérée comme la meilleure technique pour l'échantillonnage des moustiques anthropophiles et à l'estimation du contact hôte-vecteur (Karajacich et *al.*, 2014). Cette méthode nécessite des captureurs hautement qualifiés et peut donner des résultats biaisés en raison des différences individuelles dans la compétence des captureurs ou de leurs attractivités pour les moustiques (Kelly-Hope LA et *al.*, 2009; Lindsay SW et *al.*, 1993; Knols BGJ et *al.*, 1995). L'utilisation de la CSH a diminué ces dernières années pour des raisons éthiques concernant l'exposition potentielle des captureurs aux agents pathogènes transmis par les moustiques (OMS, 2003; Mathenge EM et *al.*, 2002). Pour toutes ces raisons, la méthode CSH est mal acceptée pour faire un échantillonnage à grande échelle des vecteurs du paludisme (Wong et *al.*, 2013). Plusieurs méthodes de piégeage ont été utilisées comme alternatives aux CSH, mais leur fiabilité pour estimer le taux d'agressivité et le taux d'infection varient considérablement en fonction des caractéristiques des populations de vecteurs (Ndiath M et *al.*, 2011 ; Mathenge EM et *al.*, 2002). Les pièges CDC sont les plus couramment utilisés en Afrique et sont efficaces lorsqu'ils sont suspendus à côté d'un hôte humain qui est protégé sous une moustiquaire (Lines JD et *al.*, 1991 ; Costantini et *al.*, 1998). Plusieurs études ont montré une corrélation étroite entre le nombre d'anophèles capturés par le piège CDC par rapport à la CSH (Ndiath M et *al.*, 2011 ; Sikaala et *al.*, 2013). Cependant de nombreuses études ont aussi rapportés de faibles taux de capture (Govella et *al.*, 2011) ou des résultats incohérents en utilisant le piège CDC (Overgaard et *al.*, 2012).

Les pièges *Exit trap* sont faciles à déployer et ne nécessitent pas un collecteur qualifié (Service MW, 1977 ; Odiero et *al.*, 2007), mais l'efficacité de ce piège est fortement affectée par des variables environnementales (Service MW, 1977 ; Govella et *al.*, 2011 ; Mnzava et *al.*, 1995). La TITC a été conçue comme un outil alternatif à la CSH pour l'échantillonnage des vecteurs du paludisme et de la FL (Govella et *al.*, 2009). Ce piège a été utilisé dans la zone sud soudanienne au Mali en 2011 à 2012 dans le cadre d'une étude comparative entre trois (3) méthodes de collecte de moustiques notamment la CSH, les pièges sentinelles BG (*Biogents*) et la TITC. Les résultats ont montré une corrélation positive entre les tentes Ifakara et la méthode CSH en milieu sud-soudanien du Mali (Zone à forte densité vectorielle) (Coulibaly et *al.*, 2012).

1.2. Question de recherche

La méthode de capture de moustiques par les TITC peut-elle être utilisée comme une alternative à la CSH?

1.3. Hypothèse de recherche

Les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de la FL observés au cours des captures par la méthode TITC sont comparables à ceux de la méthode CSH.

OBJECTIFS

II. Objectifs de l'étude

2-1. Objectif général

L'objectif général de notre étude est de comparer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme et de la FL obtenus avec les pièges TITC à ceux des CSH.

2-2. Objectifs spécifiques

Plus spécifiquement, il s'agira de :

- i. Comparer la densité d'*An. gambiae s.l.* (nombre d'*An. gambiae s.l.* capturés) obtenue avec chaque méthode de capture;
- ii. Comparer la densité agressive mensuelle des *An. gambiae s.l.* obtenue avec chaque méthode de capture ;
- iii. Comparer les taux d'infection des femelles d'*An. gambiae s.l.* collectées par les deux méthodes de capture.

GENERALITES

III. Généralités

3.1. Le paludisme

3.1.1. Agent pathogène

Le paludisme est une maladie parasitaire fébrile et hémolysante due à la présence et à la multiplication dans l'organisme humain d'un protozoaire du genre *Plasmodium*. C'est un parasite intracellulaire qui colonise les hématies (Adl et al., 2005).

Il appartient au phylum des *Apicomplexa*, à la classe *Aconoidasidea*, à l'ordre *Haemosporida*, à la famille *Plasmodiidae* et au genre *Plasmodium*.

Ces parasites sont transmis à l'Homme au cours d'une piqûre infectante d'un moustique femelle du genre *Anopheles* (Harbach, 2004).

3.1.2. Cycle du *Plasmodium*

Le cycle du *Plasmodium* se déroule successivement chez l'Homme qui est l'hôte intermédiaire, et chez l'anophèle femelle qui est l'hôte définitif (**Figure 1**).

3.1.2.1. Chez l'Homme

Chez l'Homme le cycle est divisé en deux (2) phases :

La phase hépatique ou pré-érythrocytaire ou exo-érythrocytaire : Elle correspond à la première partie de la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique.

La phase sanguine ou érythrocytaire : C'est au cours de cette phase qu'on observe les manifestations cliniques de la maladie.

a. Phase hépatique ou schizogonie pré-érythrocytaire

La piqûre infectante de l'anophèle femelle inocule les parasites dans le sang humain sous forme de sporozoïtes qui parviennent au foie en une trentaine de minutes. Le sporozoïte pénètre dans un hépatocyte et grossit rapidement. Son noyau se divise en un très grand nombre de fois et forme un schizonte pré-érythrocytaire (forme multi nucléée). Après quelques jours de maturation, le schizonte éclate et libère des milliers de mérozoïtes dans le sang.

La schizogonie hépatique est unique dans le cycle, la cellule hépatique ne pouvant être infectée que par des sporozoïtes.

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, une schizogonie hépatique retardée (hypnozoïtes) peut entraîner la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois après la piqûre du moustique, expliquant ainsi les rechutes tardives observées avec ces deux espèces.

b. Phase sanguine ou schizogonie érythrocytaire

Une partie des mérozoïtes (ou peut-être la totalité dans le cas de *P. falciparum*) va passer dans le sang et pénétrer dans des hématies. La pénétration du mérozoïte dans l'érythrocyte et sa maturation en trophozoïte puis en schizonte prend 48 ou 72 heures, et conduit à la destruction du globule rouge hôte et à la libération de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes. Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux globules rouges et débutent un nouveau cycle de réplication.

Après plusieurs cycles schizogoniques érythrocytaires, certains trophozoïtes mûrs, vont se transformer en gamétocytes, formes sexuées mâles et femelles, qui restent dans le sang sans évoluer.

3.1.2.2. Chez l'Anophèle

Lors d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'anophèle femelle ingère des gamétocytes, à potentiel sexuel mâle ou femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'ex flagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète ; celui-ci s'implante sous la paroi stomacale en formant l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique et est suivie par plusieurs milliers de mitoses qui conduisent au développement de sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste libère ces éléments mobiles et haploïdes dans l'hémolymph. Les sporozoïtes gagnent préférentiellement les glandes salivaires du moustique d'où ils pourront être injectés avec la salive lors d'une piqûre infectante. Chez le moustique, l'ensemble de ce cycle se déroule en 10 à 40 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause (Chabasse et *al.*, 2007).

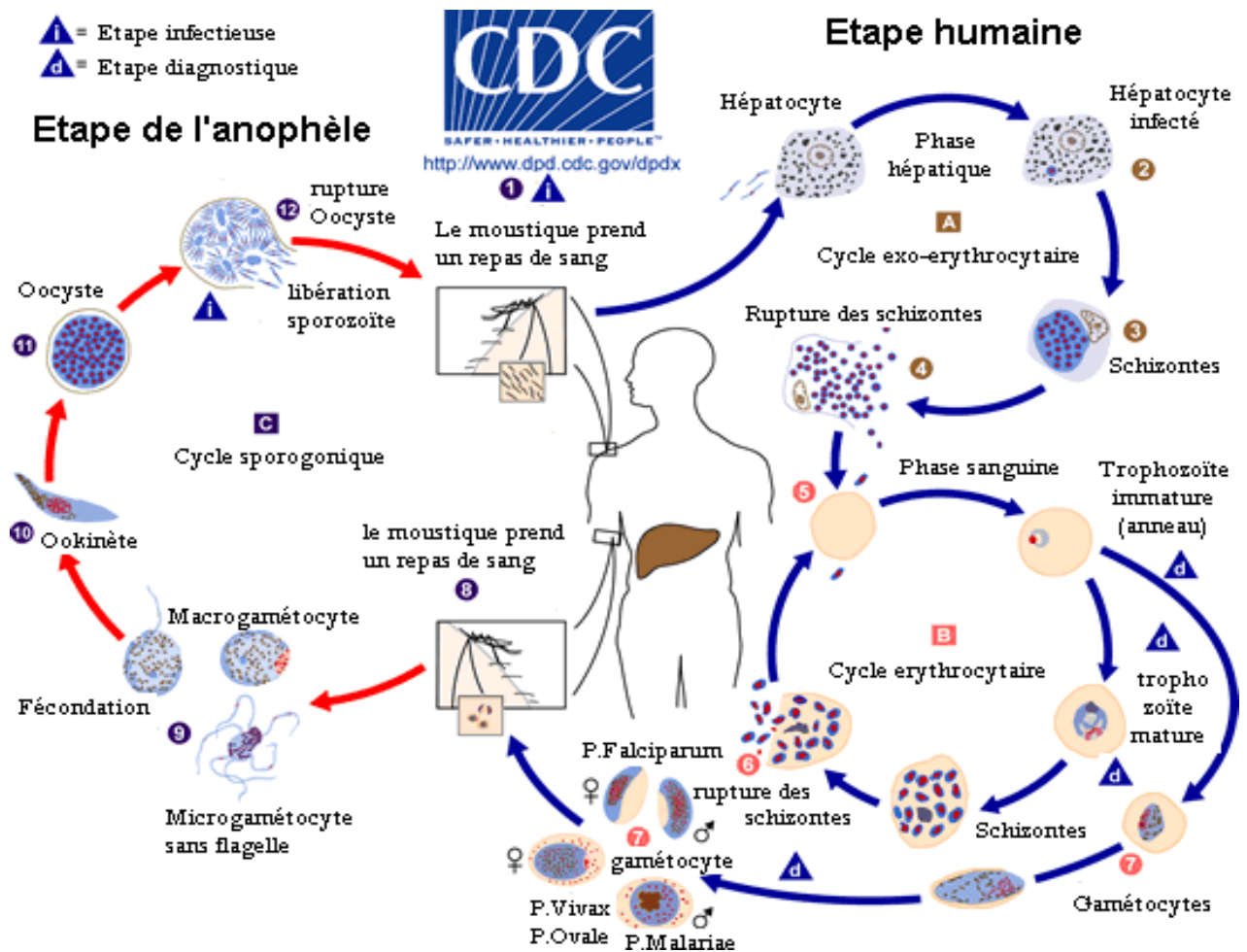


Figure 1: Cycles biologiques de *Plasmodium*

Source: http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/ImageLibrary/Malaria_il.htm (date de dernière consultation : le 02 Août 2013).

3.1.3. Epidémiologie

En 2013, selon les dernières estimations, 198 millions de cas de paludisme dont 584 000 décès ont été rapportés dans le monde. Ce qui représente de 2000 à 2013 une diminution de l'incidence et du taux de mortalité du paludisme de 30% et de 47% respectivement. Aussi, parmi les 3,3 milliards de personnes dans 97 pays et territoires à risque d'infection du paludisme, 1,2 milliard présentent un risque élevé. Le rapport OMS 2014 basé sur ces données 2013 confirme que le paludisme reste toujours un problème de santé publique dans le monde. (OMS, 2014).

3.2. La filariose lymphatique

La FL est causée par des vers parasites du genre *W. bancrofti*, *B. malayi* et *B. timori* qui sont transmis d'une personne à une autre au cours d'une piqûre infectante des moustiques femelles qui peuvent appartenir à plusieurs genres dont *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* ou *Mansonia* (Gerusa et al., 2003; Pichon et al., 1979).

3.2.1. Agent pathogène

Les parasites adultes ou macro-filaires sont des vers ronds, blancs, filiformes, et long de 4 à 10 cm. Les mâles et les femelles vivent enroulés en peloton dans le système lymphatique de l'Homme, le réservoir naturel sauf pour *B. malayi* pour lequel il existe un réservoir animal. Leur longévité est de 15 ans ou plus. Les femelles donnent des embryons ou microfilaires qui circulent en permanence dans la lymphe et périodiquement dans le sang. Elles mesurent 250 à 300 µm de longueur, 8 µm de diamètre et sont entourées d'une gaine (Gentilini et al., 2000). Trois filaires lymphatiques se rencontrent chez l'Homme : *W. bancrofti* ou filaire de Bancroft, qui comporte une variété *pacifica* en Océanie; *B. malayi*, ou filaire de Malaisie; *B. timori* retrouvée surtout dans les Iles Célèbes et Timor. *W. bancrofti* est largement répandu dans toute la zone inter- et subtropicale du globe (Aubry, 2014).

3.2.2. Cycle de la filariose lymphatique

Il nécessite l'intervention de deux hôtes : un hôte vertébré (l'Homme ou l'animal qui est l'hôte définitif) et un hôte invertébré (un moustique qui est l'hôte intermédiaire) (Figure 2).

a. Chez l'Homme qui est l'hôte définitif (HD) : C'est lors de la piqûre infectante d'un anophèle femelle hébergeant des larves infectantes au stade III que l'Homme est contaminé.

Lorsque le moustique pique, la gaine de la trompe sans pénétrer dans la peau, s'infléchit, sa partie moyenne devient béante et permet l'échappement des larves.

Lorsque le moustique prend du jus sucré, les larves peuvent s'échapper et ceci explique que le vecteur se déparasite spontanément. Les larves pénètrent ainsi activement dans la peau, puis gagnent les espaces lymphatiques. Les vers adultes vivent dans les canaux lymphatiques en amont des ganglions et parfois même à l'intérieur de ceux-ci. Arrivée à la maturité sexuelle, la femelle expulse des embryons vivipares ou microfilaires. Ces microfilaires sont entraînées par la lymphe et se concentrent dans le sang circulant ou elles peuvent vivre environ 3 mois. Pendant la journée, les microfilaires se cachent dans le système artériel profond, essentiellement au niveau des artérioles pulmonaires, du cœur gauche et de l'aorte.

b. Chez l'anophèle l'hôte intermédiaire (HI): Au cours de son repas de sang, le moustique pique les sujets infectés et ingère les microfilaires (mf) de *W. bancrofti* entre 22 heures et 02 heures. Les microfilaires ainsi ingérées perdent leur gaine, atteignent l'estomac du moustique, pénètrent la paroi intestinale avant de migrer vers les muscles thoraciques où elles vont subir une première mue. Elles évoluent vers le stade larvaire 1 (LI) en 5 à 6 jours. Du stade LI, elles passent au stade intermédiaire LII appelé «corps de saucisse ». Quelques jours après, une autre mue s'effectue donnant ainsi le stade LIII (infectant). Les larves sont alors très mobiles, longues et fines. L'ensemble du cycle dure en moyenne un peu moins de quinze jours à 25°C-30°C. Cette durée est fonction de la température, de l'espèce ou de la souche (Brunhes, 1969).

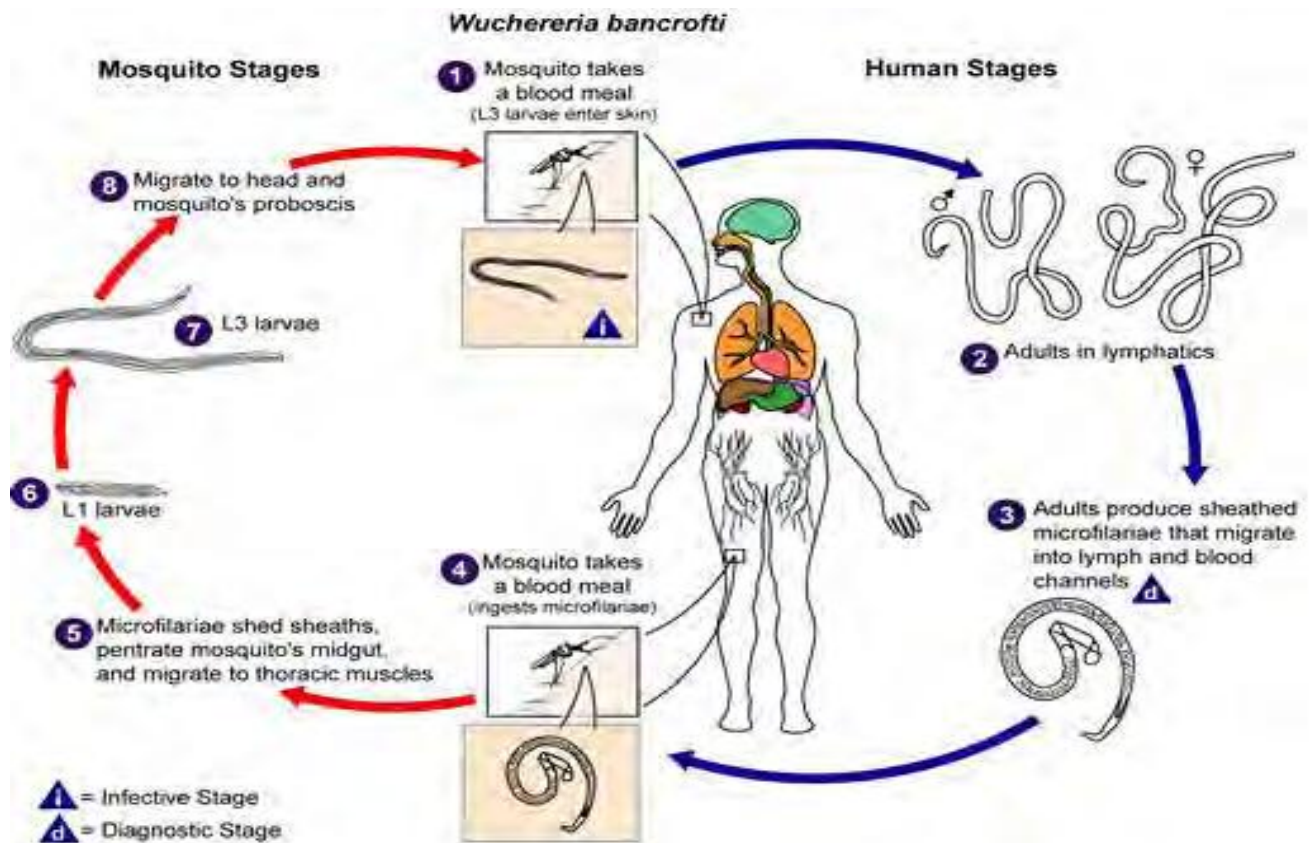


Figure 2: Cycle de *Wuchereria bancrofti*

Source: http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Filariasis_il.htm (date de dernière consultation : le 02 Août 2013).

3.2.3. Epidémiologie

La cartographie de la distribution de la FL a fait de rapides progrès ces dernières années, de sorte que des données fiables sont disponibles sur le nombre de personnes qui ont besoin d'un traitement et sur le nombre de celles qui ont été traitées. A l'échelle mondiale, 1,39 milliard de personnes ont besoin d'une chimio-prophylaxie, et 70 des 72 pays d'endémie ont des programmes pour éliminer la FL.

Dans les Régions OMS de l'Asie du sud-est et de l'Afrique que le nombre de personnes ayant besoin d'un traitement préventif est le plus élevé : 877 millions de personnes dans neuf pays (63 %) de la Région de l'Asie du sud-est et 432 millions de personnes dans 34 pays (31 %) de la Région africaine. La zone du Mékong (6 pays d'endémie: Brunei Darussalam, Cambodge, République démocratique populaire de Lao, Malaisie, Philippines et Viet Nam) compte 3 % de la population mondiale ayant besoin d'un traitement préventif ; 3 % supplémentaires se trouvent dans la Région des Amériques (4 pays d'endémie), dans la Région de la Méditerranée orientale (3 pays d'endémie) et en Océanie (16 pays d'endémie). Les infections à *Brugia* se limitent à la Région de l'Asie du sud-est (PMEFL, 2010).

3. 3. Les vecteurs du paludisme et de la FL

Bien que la transmission de la FL puisse être assurée par plusieurs espèces de culicidés, en Afrique de l'Ouest, le paludisme et la FL peuvent avoir les mêmes vecteurs qui sont des moustiques du genre *Anopheles*. Ce sont des insectes diptères appartenant à la famille des culicidés.

A. Morphologie des adultes

Le moustique adulte comprend trois parties bien distinctes : La tête, le thorax, et l'abdomen

La tête: Comporte deux gros yeux, une paire d'antennes à soies nombreuses et longues chez le mâle et courtes chez la femelle, la trompe ou proboscis représente les pièces buccales.

Le thorax: Est formé de trois segments (prothorax, mésothorax, métathorax) qui porte chacun une paire de pattes. Sur le second et le troisième segment, s'insèrent, respectivement une paire d'ailes et une paire d'haltères ou balanciers.

L'abdomen: Est formé de dix segments, dont sept sont bien visibles. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale reliée par une membrane. Les trois derniers segments portent l'anus et appendices génitaux ou *genitalia*.

L'ensemble trompe-tête-thorax-abdomen est dans le même alignement. Au repos, cet alignement détermine par rapport au support un angle aigu caractéristique des anophèles (Holstein, 1949).

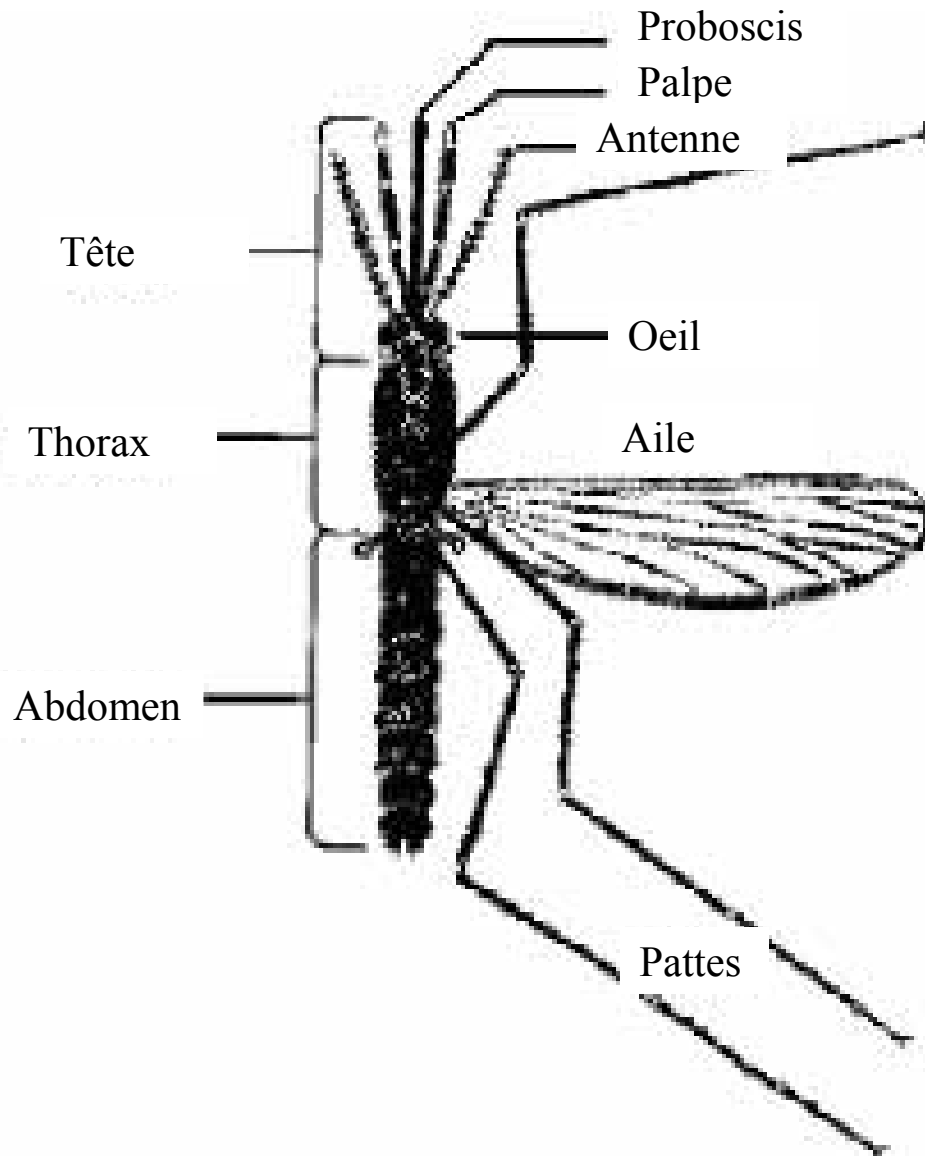


Figure 3: Morphologie générale des Anophèles adultes (OMS, 2003)

B. Cycle de reproduction des anophèles

Le développement de toutes les espèces de moustiques est caractérisé par la succession de deux phases : la phase aquatique qui recouvre la vie pré-imaginale c'est-à-dire l'œuf, les stades larvaires et la nymphe, la phase aérienne qui concerne l'adulte ou imago [Hervy et *al.*, 1998].

Les anophèles femelles pondent des œufs fécondés sur l'eau.

Ces œufs mesurent moins de 1 mm de longueur, sont pondus isolément, et sont munis de flotteurs qui leurs permettent de rester en surface durant l'embryogénèse.

Après éclosion, chaque œuf donne une seule larve d'environ 1 mm de longueur. La larve aquatique des anophèles se nourrit en filtrant les débris organiques et les micro-organismes de l'eau. Il y a quatre stades larvaires séparés par trois mues larvaires. La larve de stade 4 mesure 5 mm à 1 cm de longueur et effectue une mue particulière, la nymphose qui libère une nymphe aquatique mobile qui ne se nourrit pas. De profonds remaniements de la morphologie s'effectuent au cours du stade nymphal.

De la nymphe émerge un adulte, mâle ou femelle, qui reste sur place pour sécher les ailes et permettre la solidification de l'exosquelette et une rotation de la *genetalia* surtout chez le mâle (rotation à 180°) (Figure 2). C'est au cours de la phase aérienne, le plus souvent dans un essaim de mâles réunis au crépuscule, que s'effectue l'insémination de la femelle néonate.

Les spermatozoïdes sont introduits dans la bourse copulatrice de la femelle, puis ils migrent dans une spermathèque, une sorte d'annexe du système sexuel femelle, dans laquelle ils conservent leur pouvoir fécondant pendant plusieurs semaines jusqu'à la mort de la femelle. Mâles et femelles se nourrissent de jus sucrés, nectars et autres exsudats végétaux. Le mâle ne pique pas et ne se nourrit pas de sang, seule la femelle est hématophage. Le repas sanguin n'est pas indispensable à sa survie mais intervient à la maturation de l'ovaire qui comprend habituellement 150 œufs chez *An. gambiae*. La fécondation s'effectue dans le tractus génital de la femelle, lors de la ponte, les spermatozoïdes sont libérés à partir de la spermathèque.

A la température de 25 °C, la durée de la phase pré-imaginale est d'une dizaine de jours pour *An. gambiae* et d'une vingtaine pour *An. funestus*. Cette phase s'allonge quand la température diminue et se raccourcit quand elle augmente (cinq jours à 30 °C pour *An. gambiae*) (Hervy et *al.*, 1998).

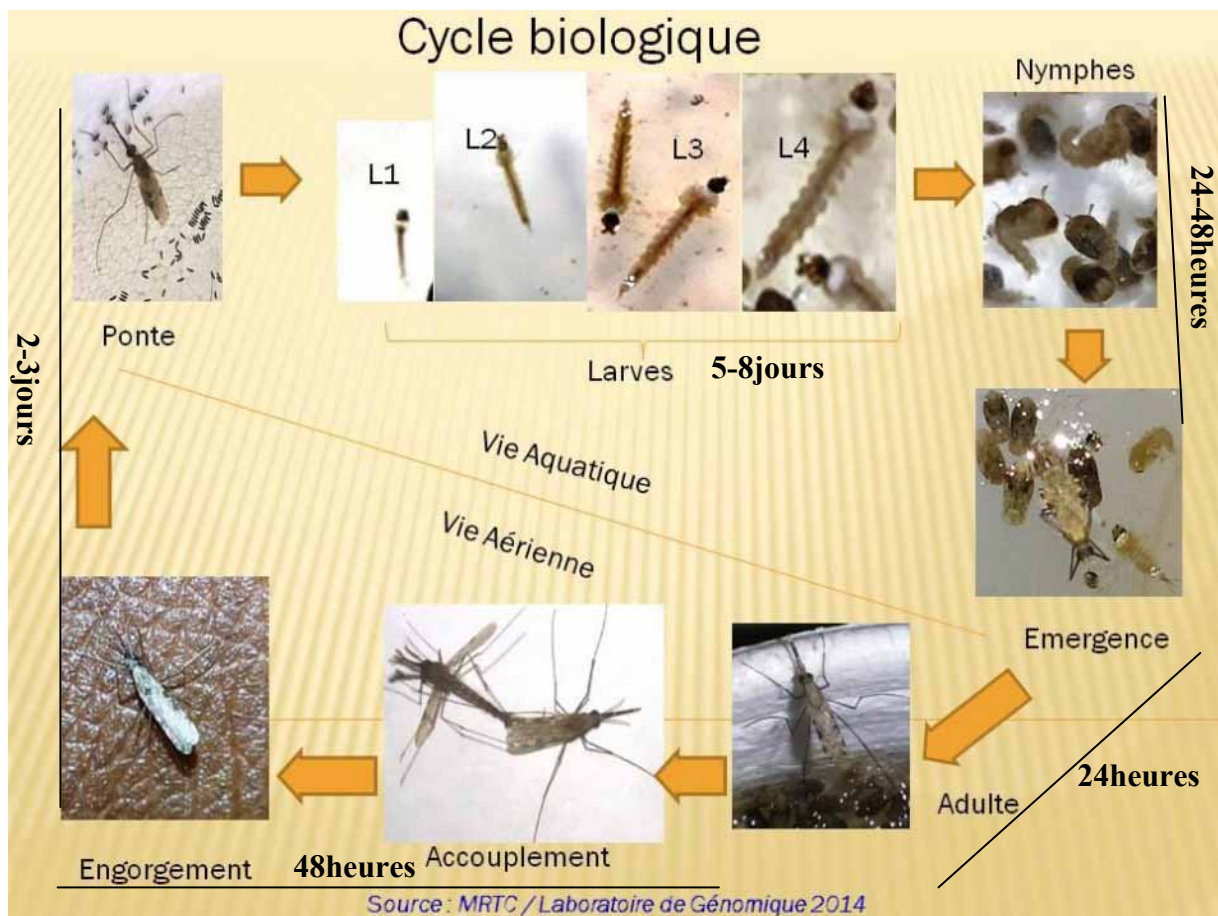


Figure 4: Cycle de développement des anophèles

C. Distribution géographique des Anophèles vecteurs en Afrique

En Afrique, la faune anophélienne comporte environ 145 espèces d'anophèles mais 16 espèces seulement sont impliquées dans la transmission du paludisme à l'Homme. Cinq vecteurs sont qualifiés d'importance majeure : *An. gambiae* forme moléculaire M qui a été dénommé *An. coluzzii* et *An. gambiae* Giles qui est la forme S (Coetzee *et al.*, 2013), *An. funestus* largement répartis sur tout le continent, *An. nili* et *An. moucheti* confinés en régions forestières et post forestières et *An. arabiensis* rencontré en zones de savane (Gillies et Meillon, 1968).

D'autres vecteurs secondaires tels que *An. paludis*, *An. flavicosta* transmettent le paludisme occasionnellement dans certaines localités où ils sont peu nombreux et peu infectés (Hamon et Mouchet, 1961). A ces vecteurs secondaires, s'ajoute une autre espèce vectrice, *An. ovengensis* découvert au sud du Cameroun (Awono-Ambene *et al.*, 2004).

Au Mali, *An. gambiae s.l.* et *An. funestus* sont les principaux vecteurs de la FL à *W. bancrofti* et du paludisme (Touré, 1979; Coulibaly *et al.*, 2006; Balam, 2007).

D. Interaction de la co-infection *Plasmodium-Wuchereria* chez les mêmes vecteurs

Si le rôle des anophèles comme vecteur pour le paludisme et pour la FL est bien connu, la survenue et la prévalence des infections concomitantes de ces deux parasites et leurs interactions au niveau du vecteur sont encore mal comprises. Les rapports récents sur ces phénomènes portaient plutôt sur des co-infections observées lors des dissections de routine de moustiques pour le paludisme ou la FL (Ephantus *et al.*, 2008).

Des études ultérieures ont confirmé que la transmission simultanée des parasites du paludisme et ceux de la FL par le même moustique était rare dans la nature (Burkot *et al.*, 1990; Muturi *et al.*, 2006). De récentes études dans des régions endémiques en Afrique ont montré que malgré la transmission des deux maladies par le même vecteur, une maladie tente de dominer l'autre probablement à cause d'une compétition inter-espèces entre la microfilaire et le *Plasmodium* chez le vecteur (Muturi *et al.*, 2006).

3.4. Les Méthodes de capture les plus utilisées en Afrique

3.4.1. Capture sur homme (CSH)

La méthode la plus directe de mesure du contact hôte-vecteur est la technique de capture sur sujet humain (CSH). Elle consiste à un individu ("captureur") assis sur une chaise ou un tabouret, à capturer à l'aide de tubes (en verre ou en plastique), les moustiques qui viennent se poser sur une partie de son corps laissée nue (souvent la partie inférieure des jambes, en

dessous des genoux) (Coffinet *et al.*, 2009). Idéalement, les moustiques sont capturés avant d'avoir eu le temps de piquer.

Cette méthode ne tue pas les moustiques capturés qui peuvent être conservés pour des analyses ultérieures (identification morphologique, dissection, analyse de biochimie et de biologie moléculaire). Parmi les limites de cette technique, il y a le risque d'exposer les captureurs à d'éventuelles piqûres infectantes de moustiques qui pourraient leur transmettre des maladies vectorielles (Moiroux, 2012).



Figure 5 : Volontaire en capture (MRTC/ Laboratoire de Génomique 2014)

3.4.2. Les captures par piégeage

3.4.2.1. Le piège CDC

Le piège CDC *Light-trap* (Sudia, 1962) est certainement le plus utilisé parmi les pièges lumineux. Il est facilement transportable et peu encombrant. Ce qui permet de l'installer sans problème à l'intérieur aussi bien qu'à l'extérieur des habitations.

Il est essentiellement destiné à la capture de moustiques nocturnes et par conséquent, a été abondamment utilisé pour la capture des vecteurs du paludisme. Il permet la capture d'*Ae. aegypti* lorsque celui-ci est nocturne ou crépusculaire (Odetoyinbo, 1969).

Cependant les auteurs qui l'ont testé spécifiquement pour cette espèce mentionnent tous un très faible rendement (Mboera *et al.*, 2000 ; Valder *et al.*, 1971 ; Vargas et Prusak, 1994). La modification du spectre lumineux avec utilisation de lumière UV (Service, 1970), ou encore de lumière chimique (Service et Highton, 1980), n'améliore en rien les captures de cette

espèce. L'inconvénient de ce piège est qu'il tue et assèche les moustiques rendant donc difficile la dissection pour l'observation microscopique.



Figure 6 : Piège lumineux CDC (David Basile, 2006)

3.4.2.2. Le piège *Biogent-Sentinel* (BGS)

Le BGS est un piège facile à transporter, pliable avec une gaze blanche couvrant son ouverture. Dans le milieu de la couverture de la gaze, il y a un tube noir à travers lequel un débit descendant est créé par un ventilateur électrique alimenté par une batterie 12 V (7 A) aspirant les moustiques qui sont au voisinage de l'ouverture dans un sac de capture. Un attractif (*BG-Lure*) libère des odeurs synthétiques de la peau humaine qui attire préférentiellement les femelles à la recherche d'hôtes (De Freitas, 2006) (Figure 7).



Figure 7: Piège *biogents sentinel* (De Freitas, 2006)

3.4.2.3. Le piège *Exit trap*

Cette méthode consiste à fixer les pièges aux fenêtres des chambres pour déterminer le mouvement des moustiques pendant la nuit et leur comportement de repos (Figure 8).

Les moustiques sont récupérés à l'intérieur des pièges, généralement le matin et sont placés dans des gobelets en papier pour être transportés au laboratoire. Au laboratoire, les moustiques femelles sont disséqués pour déterminer leur état physiologique. La présence de jeunes moustiques non gorgés suggère qu'ils n'ont pas réussi à se nourrir ou non pas encore essayé de se nourrir. La présence de moustiques gorgés de sang suggère qu'ils sortaient de la pièce pour aller se reposer ailleurs et développer leurs ovaires. La présence de moustiques gravides suggère qu'ils ont développé leurs ovaires au repos à l'intérieur et sortent pour pondre à l'extérieur (OMS, 1975).



Figure 8 : *Exit trap* (Manuel de formation en Entomologie, Septembre 2012)

3.4.2.4. Tente Ifakara type C

La TITC est une tente qui mesure deux (2) mètres de long et un (1) mètre de large dans laquelle peut dormir un homme. Ce piège comporte six (6) fenêtres qui sont protégées par des mailles ou sont piégées les moustiques. Cependant le sujet qui est à l'intérieur malgré que les moustiques soient attirés par son odeur est protégé par la moustiquaire qui y est incorporée prévenant tout contact direct avec le sujet (Govella et *al.*, 2009) (Figure 9). Ce piège ne nécessite pas de personnel qualifié. Son inconvénient est qu'il est lourd pour le transport.



Figure 9 : Tente Ifakara Type C (Govella et *al.*, 2010)

3.4.2.5. Le piège OBET

La technique des OBET (Costantini et *al*, 1993) (figure 10). Le terme OBET veut dire *odor-baited-exit-trap*. Elle consiste à retenir sous les tentes différents hôtes et de faire parvenir leurs odeurs respectives dans des cages accessibles aux moustiques.

Sous chaque tente il y a un générateur de courant (batterie) qui fait tourner un ventilateur qui propulse l'odeur de l'hôte à travers un tuyau en caoutchouc jusqu'à une cage où les moustiques viennent se faire piéger à l'intérieur et ne peuvent plus sortir. Son inconvénient est qu'il est lourd pour le transport et d'un coût élevé.



Figure 10: Piège OBET (MRTC/ Laboratoire de Génomique 2014)

3.4.2.6. Les captures dans les lieux de repos extérieurs

Cette méthode est utilisée pour capturer les moustiques se reposant dehors dans leurs lieux de repos naturels (exophiles) (Figure 11). Certains vecteurs se nourrissent à l'intérieur et se reposent à l'extérieur, d'autres par contre se nourrissent à l'extérieur et se reposent à l'extérieur. La source des repas de sang de moustiques se reposant dehors indique normalement leur préférence en matière d'hôte et leur comportement trophique. Les données provenant des collectes effectuées à l'extérieur sont importantes dans l'évaluation de l'impact de mesures anti vectorielles et fournissent des informations sur: Les espèces qui se reposent habituellement à l'extérieur; la proportion de moustiques se reposant à l'extérieur; les changements saisonniers des lieux de repos extérieurs; les variations du nombre relatif de moustiques se reposant à l'extérieur après le traitement à l'insecticide de l'intérieur d'habitations (valable après une pulvérisation intra domiciliaire (PID) mais pas comme un paramètre de routine). Les captureurs recherchent des moustiques au repos dans des lieux extérieurs susceptibles d'abriter les moustiques. Il s'agit généralement des endroits ombragés et humides tels que les végétations environnantes, les trous d'arbres, les trous de crabes ou les parois extérieures de maisons près du toit, ainsi que les abris d'animaux domestiques (étables, enclos). Les captures se font généralement pendant la journée, normalement le matin mais parfois en début de soirée, selon l'espèce vectrice.



Figure 11 : Prélèvement dans une étable à l'aide d'aspirateurs mécaniques
(photo : C.A. Sousa)

MATERIEL
ET
METHODES

IV. Matériel et Méthodes

4.1. Type et période d'étude

Notre étude était de type transversal avec des passages mensuels d'Août à Octobre 2013.

4.2. Site d'étude

Cette étude a eu lieu dans le village de Tiénéguebougou faisant partie du district sanitaire de Kolokani dans la région de Koulikoro. Tiénéguebougou est situé à 105 km au Nord de Bamako. Ce village est connu co-endémique pour la FL et le paludisme malgré que la population ait déjà reçu huit (8) séances de traitements de masse (TDM) avec l'albendazole et l'ivermectine et des distributions de moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA).

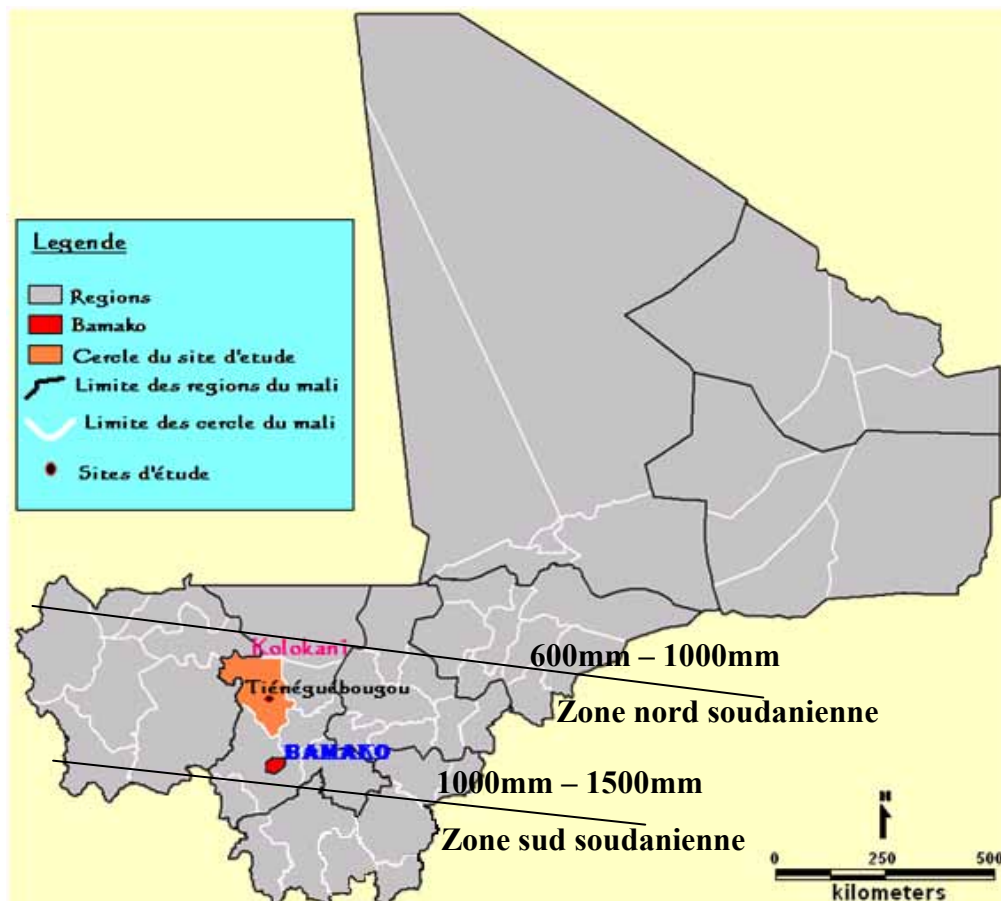


Figure 12 : Carte du Mali montrant le site d'étude

Source: Filariasis Lab/ MRTC

4.3. Echantillonnage

L'échantillon était constitué de l'ensemble des moustiques capturés d'Août à Octobre 2013 par les deux méthodes de collecte. Les deux méthodes ont été utilisées mensuellement et simultanément durant les trois mois de capture (Août à Octobre 2013).

Durant ces trois mois, deux postes ont été utilisés par les deux méthodes de capture. Ces captures s'étendaient sur quatre jours par mois. Les postes de captures étaient distants les uns des autres d'au moins cinquante mètres.

Toutes les collectes se sont déroulées de 18 heures à 6 heures du matin (avec un changement de collecteurs à minuit) au niveau de chaque point de capture.

4.3.1. Capture CSH

Deux cases ont été choisies dans le village à chaque passage de l'étude.

Les collecteurs utilisaient la lumière d'une lampe torche pour s'aider à voir les moustiques. Ils travaillaient de 18 heures à minuit et de minuit à 6 heures du matin. En cas de pluie, les collecteurs de l'extérieur utilisaient un hangar pour se protéger. Il y avait deux collecteurs de moustiques à chaque point de capture. Ces deux collecteurs travaillaient de 18 heures à minuit et les deux autres de minuit à 6 heures du matin. Au total, huit personnes ont été impliquées dans les CSH.

4.3.2. Les collectes à l'aide du piège tente Ifakara type C

Deux TITC ont été utilisés dans le village à chaque passage de l'étude.

Un collecteur travaillait de 18 heures à minuit et un autre de minuit à 6 heures du matin sous la tente. De 18 heures à 6 heures du matin, le technicien utilisait un aspirateur pour collecter les moustiques piégés à travers les petites ouvertures de l'intérieur. Au total, quatre personnes ont été impliquées dans la capture sous TITC.

4.3.3. Identification des espèces de moustiques

Les moustiques ont été triés et examinés macroscopiquement en utilisant les clés d'identification morphologiques publiées par Gillies & De Meillon (1968).

4.3.4. Dissection et détermination de la parturité

Après l'identification morphologique, les ovaires des spécimens d'anophèles ont été extraits et examinés pour établir la parturité selon la technique de Detinova (1945).

Leur examen a permis de distinguer les femelles *pares* (qui avaient déjà pondu au moins une fois) des femelles *nullipares* (qui n'avaient pas encore pondu).

4.3.5. Détection de l'infection des moustiques à *Wuchereria* et au *Plasmodium* par RT-PCR

Les carcasses des moustiques ont été mises en lots de 20 dans des tubes étiquetés contenant une solution d'éthanol à 70% pour des fins de traitement par RT-PCR en vue de la détermination du taux d'infection à *W. bancrofti* et/ou par *P. falciparum*. Le logiciel «Pool Screen® 2.0» a été utilisé pour le calcul du taux d'infection à *W. bancrofti* et/ou à *P. falciparum*. Ce logiciel utilise un modèle statistique pour calculer la probabilité d'infection des vecteurs à partir du nombre de pools positifs avec IC à 95%. (Katholi et al., 1995).

4.3.5.1. Principe général de la PCR

La polymérisation en chaîne est basée sur le principe de la réplication de l'ADN double brin lors de la mitose (Clavel, 1993). Cette réaction se fait sur plusieurs cycles comprenant chacun 3 étapes:

A. La dénaturation

Phase au cours de laquelle l'ADN double brin est dénaturé en simple brin par l'augmentation de la température entre 90°C et 97°C (De Bruijn, 1988 ; Innis et Gelfand, 1990).

En fonction de la longueur et de la composition en bases de la séquence d'ADN cible, cette phase de dénaturation dure de 15 à 30 secondes. En général, la dénaturation de tout le génome dure 5 minutes à une température de 94°C;

B. L'hybridation

Phase de refroidissement au cours de laquelle les amorces s'apparient (ou s'hybrident) à leur séquence complémentaire sur l'ADN cible. La température d'hybridation varie entre 50°C et 72°C. Elle dépend de la séquence et du nombre de nucléotides des amorces;

C. L'élongation

Au cours de laquelle chaque amorce fixée sur l'un des brins va s'étendre à partir de son côté 3' par juxtaposition de nucléotides (dNTPs) par l'ADN polymérase. L'élongation des amorces se fait en sens opposé en intercalant la séquence à amplifier. Elle dure de 30 secondes à 2 minutes et se déroule à une température de 72°C.

4.5. Collecte, saisie et analyse des données

Tous les moustiques collectés ont été enregistrés sur des fiches de base sur le terrain. Les données ont ensuite été saisies dans Microsoft Excel et analysées en utilisant les logiciels

SPSS[®] et *Graph Pad Prism* version 6 (qui a été utilisé pour faire les tests de corrélation de Pearson).

Pool Screen[®] 2.0 a été utilisé pour l'estimation des taux d'infection avec un intervalle de confiance (IC) à 95%. Tous les tests ont été réalisés avec un niveau de significativité de 5% ($p < 0,05$)

4.5.1. Les paramètres entomologiques suivants ont été calculés

a. Le taux d'agressivité

L'agressivité d'un moustique est le nombre de piqûres par homme et par nuit (PHN) pour chaque espèce vectrice. En capture de nuit, elle est égale au nombre total de moustiques divisé par le nombre total de captureurs multiplié par le nombre de nuits de captures.

$$m. a = \frac{\text{Nombre total d'anophèles capturés}}{\text{Nombre de captureurs} \times \text{Nombre de nuits de captures}}$$

b. Le taux d'infection

Le taux d'infection à *P. falciparum* et celui à *W. bancrofti*, est la proportion du nombre de pools positifs par le test RT-PCR, dont la détermination se fait par le logiciel « *Pool Screen*[®] 2.0 » avec un IC à 95%. Ce pendant le taux de coinfection est le nombre de pools positifs à *P. falciparum* et à *W. bancrofti* par le test RT-PCR.

c. Le taux de parturité

La détermination de la parturité se fait par dissection des ovaires. Leur examen permet de reconnaître une femelle *pare* (qui a déjà pondu au moins une fois), d'une *nullipare* (qui n'a pas encore pondu). Pour le calcul du taux de parturité (*TP*) exprimé en pourcentage, nous avons utilisé la formule :

$$\text{Taux de parturité} = \frac{\text{Nombre de femelles pares}}{\text{Nombre de femelles disséquées}} \times 100$$

4.6. Les aspects éthiques

L'accord du chef de village, de ses conseillers et des chefs de famille du village a au préalable été obtenu après une séance d'explications du protocole pour obtention du consentement collectif.

Les collecteurs de moustiques ont été informés des risques encourus lors de la CSH et ont donné leur consentement avant chaque séance de capture. Ils ont été suivis mensuellement pendant les trois mois de l'étude pour détecter précocement tout cas de paludisme dont le traitement était entièrement à notre charge.

RESULTATS

V. Résultats

Au terme de la capture sur les trois mois, 71,8% (1089/1516) *An. gambiae s.l.* avaient été collectés par la CSH contre 28,2% (427/1516) *An. gambiae s.l.* par le TITC durant toute notre étude. Le rendement mensuel (nombre de moustiques capturés par mois) du piège TITC a été toujours inférieur à celui de la CSH en terme de fréquence absolue (Tableau I).

La différence de la fréquence de la densité anophélienne entre les deux méthodes de capture était statistiquement significative avec un ($X^2=81,6 ; p<0,001$) (Tableau I).

Tableau I : Variation mensuelle de la densité d'*An. gambiae s.l.* en fonction des techniques de collecte

	Nombre de <i>gambiae s.l.</i> collecté*	CSH	TITC
Août 2013	337 (100%)	299 (88,7%)	38 (11,3%)
Sept 2013	1045 (100%)	678 (64,9%)	367 (35,1%)
Oct 2013	134 (100%)	112 (83,6%)	22 (16,4%)
Total	1516 (100%)	1089 (71,8%)	427 (28,2%)

CSH: Capture sur homme TITC: Tente Ifakara Type C *un seul *An. fenestus* a été capturé pendant toute la période d'étude par la TITC.

Le taux de parturité pour CSH, le plus bas a été enregistré au mois d’Août 2013 (74,2%) et le taux le plus élevé au mois d’Octobre 2013 (92,9%). Le taux de parturité pour TITC, le plus bas a été enregistré au mois d’Août 2013 (57,9%) et le taux le plus élevé au mois de Septembre 2013 (89,4%).

Il n’y avait pas de différence statistiquement significative du taux de parturité entre les deux méthodes de capture ($p > 0,05$) (Tableau II).

Tableau II : Variation des taux de parturité en fonction du type de capture et du mois de capture des anophèles

	CSH			TITC		
	P	NP+P	TP%	P	NP+P	TP%
Août 2013	222	299	74,2	22	38	57,9
Sept 2013	581	678	85,7	328	367	89,4
Oct 2013	104	112	92,9	18	22	81,8

P: Pare ; NP: Nullipare ; TP: Taux de parturité

Sur un total de 1516 moustiques captures, 299 moustiques avaient été capturés par la CSH contre 38 pour la TITC en Août 2013, et 678 moustiques avaient été capturés par la CSH contre 367 par la TITC en Septembre 2013 et enfin 121 moustiques avaient été capturés par la CSH contre 22 par la TITC en Octobre 2013. Il a été observé une corrélation positive significative entre le nombre d'*An gambiae s.l.* capturé par CSH et TITC (corrélation de Pearson: $r= 0,69$; $p= 0,003$) (Figure 13).

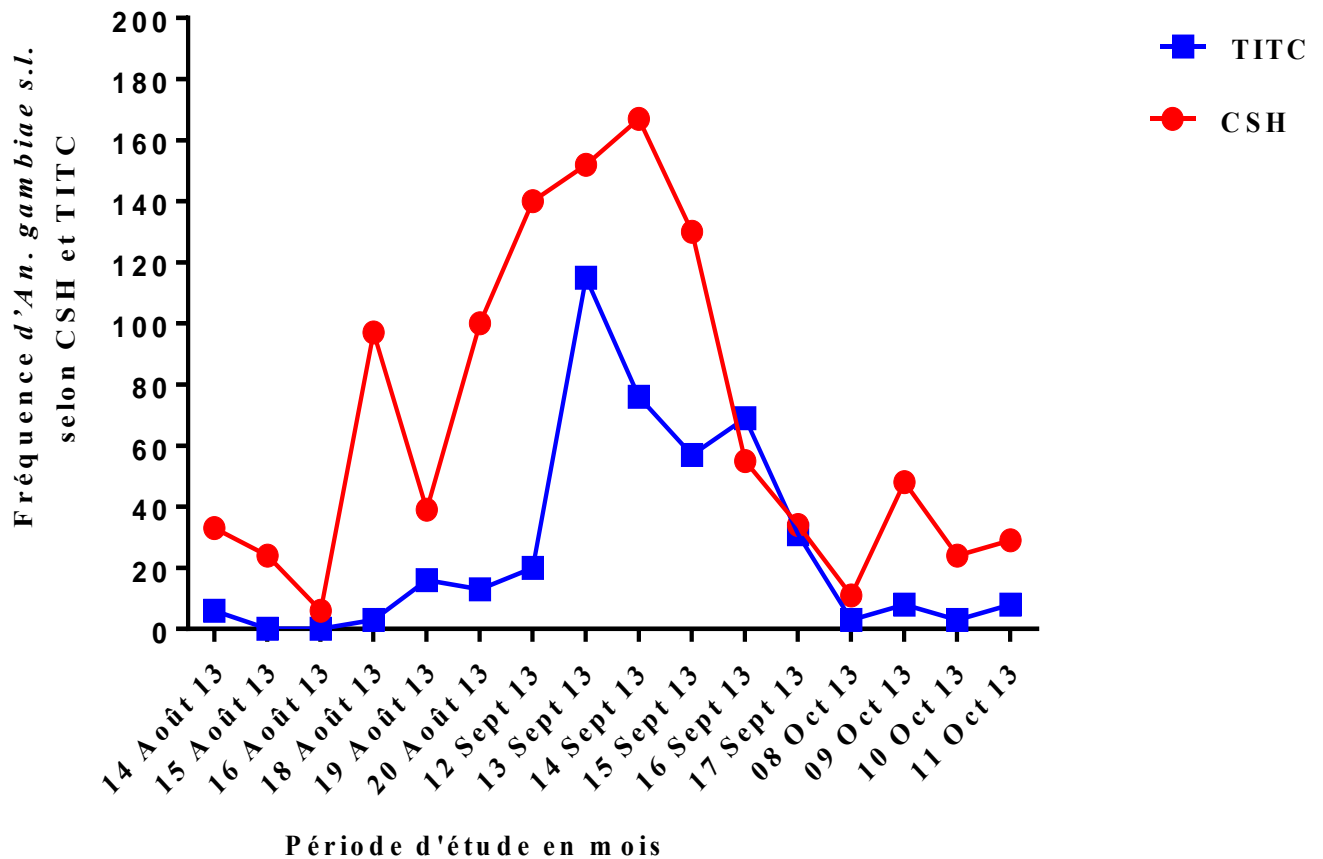


Figure 13: Corrélation entre le nombre de spécimens *d'An. gambiae s.l.* collectés par les CSH et les TITC d'Août à Octobre 2013 à Tiéneguebouyou

Les agressivités mensuelles subissaient des variations, en présentant le plus grand pic pour les deux méthodes en Septembre, avec 42 piqures/pers/mois pour CSH et 46 piqures/pers/mois pour TITC. Et le plus bas pic en Octobre, avec 7 piqures/pers/mois pour CSH et 3 piqures/pers/mois pour TITC. Il y avait une différence statistiquement significative entre les deux méthodes durant les mois de capture pour l'agressivité avec un ($F=21,26 ; p= 0,04$) par le test d'ANOVA (Figure 14).

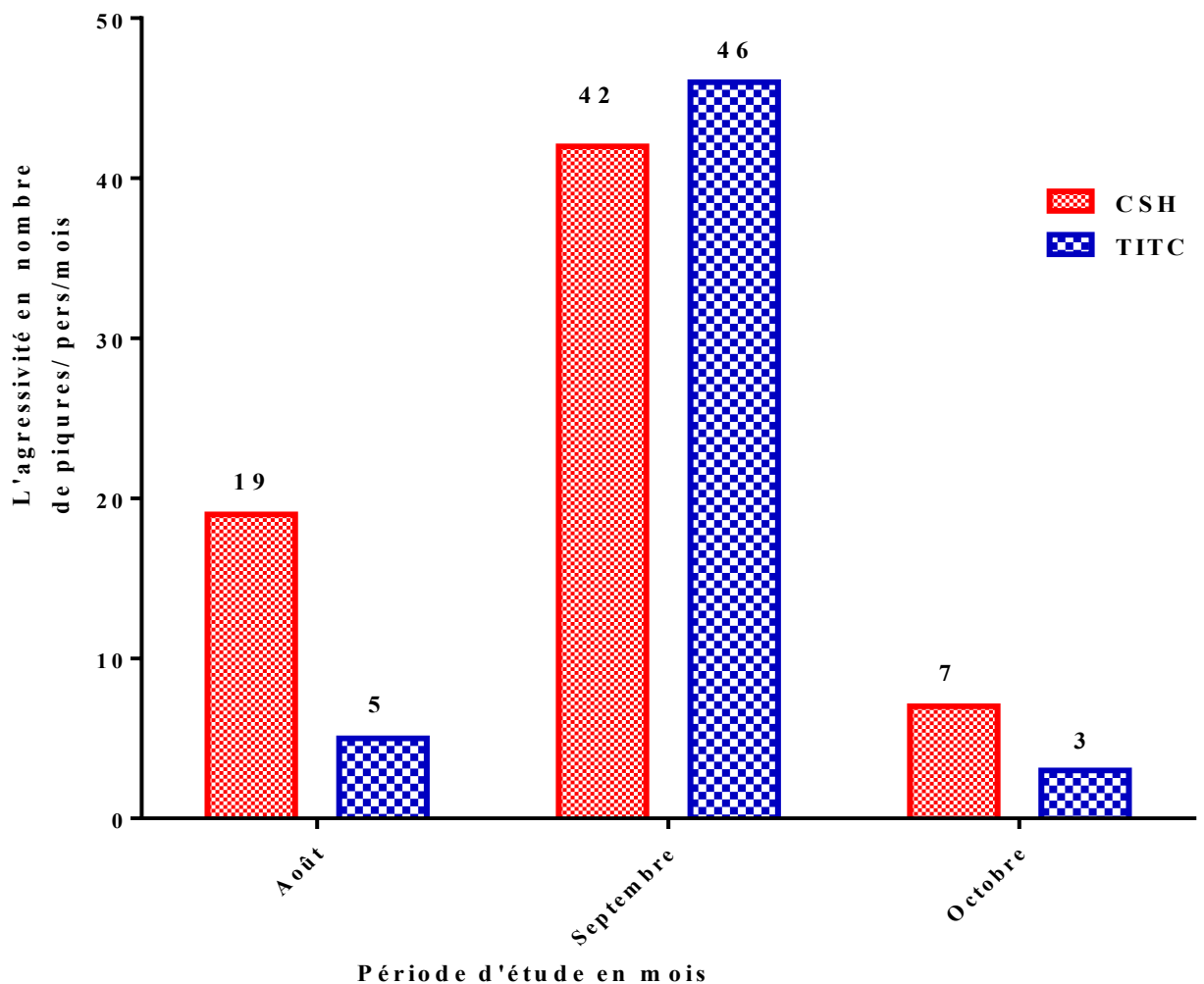


Figure 14: Variation de l'agressivité moyenne mensuelle d'*An. gambiae s.l.* par mois de collecte selon les méthodes de capture

Sur un total de 1089 *An. gambiae s.l.* collectés par la CSH, le taux d'infection à *W. bancrofti* a varié de 0,9% en Octobre 2013 à 4,7% en Août 2013. Sur un total de 427 *An. gambiae s.l.* collectés par la TITC, le taux d'infection a varié de 0,6% en Septembre 2013 à 1,03% en Octobre 2013. Avec un IC 95%, les taux d'infection d'*An. gambiae s.l.* à *W. bancrofti* obtenus par la CSH et la TITC du mois d'Octobre respectivement (0,9; [0,02- 4,7]) et (1,03; [1- 3,2]) étaient comparable. Les taux globales d'infection par les deux méthodes étaient statistiquement différents durant les mois d'Août à Octobre 2013 avec un (*Fisher's exact test* $p=0.005$). (Tableau III).

Tableau III: Variation du taux d'infection à *W. bancrofti* chez *An. gambiae s.l.* par mois de collecte selon les deux méthodes de capture à l'analyse en *pool screening*

	Espèces	CSH				Espèces	TITC			
		Nbre Pool	Nbre Pos	TI	IC 95%		Nbre Pool	Nbre pos	TI	IC 95%
Août 2013	<i>An. gambiae s.l.</i>	19	10	4,7	[2,1- 8,9]	<i>An. gambiae s.l.</i>	8	0	0	[0- 4,9]
Sept 2013	<i>An.gambiae s.l.</i>	35	13	2,4	[1,2- 4,1]	<i>An.gambiae s.l.</i>	20	2	0,6	[0,07- 2]
Oct 2013	<i>An. gambiae s.l.</i>	9	1	0,9	[0,02-4,7]	<i>An. gambiae s.l.</i>	7	2	1,03	[1-3,2]
Total	<i>An. gambiae s.l.</i>	63	24	8	[3,3-17,7]	<i>An. gambiae s.l.</i>	35	4	1,6	[1,07-9,1]

Nbre: Nombre; TI: Taux d'infection; Pos: positif; IC 95%: intervalle de confiance à 95%

Sur un total de 1089 *An. gambiae s.l.* collectés par la CSH, le taux d'infection à *P. falciparum* a varié de 1,6% en Octobre 2013 à 2,8% en Août 2013. Sur un total de 427 *An. gambiae s.l.* collectés par la TITC, le taux d'infection a varié de 1,03% en Octobre 2013 à 1,8% en Septembre 2013. Avec un IC 95% les taux d'infection d'*An. gambiae s.l.* à *P. falciparum* obtenus par la CSH et la TITC du mois d'Octobre respectivement (1,6; [0,3- 5,9]) et (1,03; [1- 3,2]) étaient comparable. Les taux globales d'infection par les deux méthodes à *P. falciparum* n'étaient pas statistiquement différents durant les mois d'Août à Octobre 2013 avec un (*Fisher's exact test* $p= 0,65$). (Tableau IV).

Tableau IV: Variation du taux d'infection à *P. falciparum* parmi les *An. gambiae s.l.* par mois de collecte selon les deux méthodes de capture à l'analyse en *pool screening*

	Espèces	CSH				Espèces	TITC			
		Nbre Pool	Nbre Pos	TI	IC 95%		Nbre Pool	Nbre pos	TI	IC 95%
Août 2013	<i>An. gambiae s.l.</i>	19	7	2,8	[1,1- 5,9]	<i>An. gambiae s.l.</i>	8	0	0	[0- 4,9]
Sept 2013	<i>An.gambiae s.l.</i>	35	12	2,2	[1,04-3,8]	<i>An.gambiae s.l.</i>	20	8	1,8	[1,1-5,6]
Oct 2013	<i>An. gambiae s.l.</i>	9	3	1,6	[0,3- 5,9]	<i>An. gambiae s.l.</i>	7	2	1,03	[1-3,2]
Total	<i>An. gambiae s.l.</i>	63	22	6,6	[2,4- 15,6]	<i>An. gambiae s.l.</i>	35	10	2,8	[2,1- 8,8]

*le seul *An. funestus* n'était pas infecté ; Nbre: nombre ; TI: taux d'infection; Pos: Positif; IC 95%: intervalle de confiance 95%

Sur un total de 1089 *An. gambiae s.l.* collectés par la CSH, le taux de co-infection a varié de 0,6% en Septembre 2013 à 3,4% en Aout 2013. Sur un total de 427 *An. gambiae s.l.* collectés par la TITC, le taux de co-infection a varié de 0,3% en Septembre 2013 à 4,8% en Octobre 2013. Avec un IC 95% les taux de co-infection d'*An. gambiae s.l.* à *W. bancrofti* et *P. falciparum* obtenus par la CSH et la TITC du mois de Septembre respectivement 0,6% [0,02- 1,6] et 0,3% [0,09- 1,4] étaient comparable. Les taux globales de co-infection par les deux méthodes n'étaient pas statistiquement différents durant les trois mois d'Août à Octobre 2013 avec un (*Fisher's exact test p= 1*). (Tableau V).

Tableau V: Variation du taux de co-infection à *W. bancrofti* et *P. falciparum* chez *An. gambiae s.l.* par mois de collecte selon les deux méthodes de capture à l'analyse en *pool screening*

	Espèces	CSH				Espèces	TITC			
		Nbre Pool	Nbre Pos	TI	IC 95%		Nbre Pool	Nbre Pos	TI	IC 95%
Août 2013	<i>An. gambiae s.l.</i>	19	1	3,4	[0,01- 5,8]	<i>An. gambiae s.l.</i>	8	0	0	[0- 4,9]
Sept 2013	<i>An.gambiae s.l.</i>	35	4	0,6	[0,02- 1,6]	<i>An.gambiae s.l.</i>	20	1	0,3	[0,09- 1,4]
Oct 2013	<i>An. gambiae s.l.</i>	9	0	0	[0- 1,7]	<i>An. gambiae s.l.</i>	7	1	4,8	[0,2- 5,2]
Total	<i>An. gambiae s.l.</i>	63	5	4	[0,03- 9,1]	<i>An. gambiae s.l.</i>	35	2	5,1	[0,3- 11,5]

Nbre: Nombre; TI: Taux d'infection; Pos: Positif;

COMMENTAIRES
ET
DISCUSSION

VI. Commentaires et Discussion

Au terme de notre étude, nous avons comparé l'efficacité des méthodes de collecte des moustiques (la TITC et la CSH) en estimant les paramètres entomologiques (l'agressivité, le taux d'infection des moustiques) et leur rendement (le nombre de moustiques capturés par mois). Les résultats attendus de la TITC doivent générer des estimations épidémiologiques représentatives de l'exposition humaine aux piqûres de moustiques.

6.1. Comparaison des rendements selon les méthodes de capture par les pièges Ifakara de type C et la méthode CSH et description de la dynamique de la population anophélienne

Lors de la capture, 71,8% (1089/1516) *An. gambiae s.l.* avaient été collectés par la CSH contre 28,2% (427/1516) *An. gambiae s.l.* par la TITC durant toute notre étude. Le rendement mensuel (nombre de moustiques capturés par mois) du piège TITC a été toujours inférieur à celui de la CSH en terme de fréquence absolue ($Chi^2 = 81,6; p < 0,001$) (Tableau I). Carnevale et al., en 1974 avaient utilisé au Congo la capture par les pièges CDC placé au-dessus d'une moustiquaire imprégnée dans une même pièce que la CSH et avaient rapporté un résultat similaire. De même, Coulibaly et al. en 2012 avaient utilisé en zone sud soudanienne la CSH en comparaison avec la TITC et le BGS. Sur 1745 Anophèles collectés de juin à décembre 2011, 1019 anophèles ont été collectés par la CSH. Malgré la différence statistiquement significative observée, nous avons obtenu une corrélation positive significative entre les deux méthodes de capture ($r = 0,69; p = 0,003$) (Figure 13). Nous pouvons dire que les tendances sont les mêmes entre les deux techniques même si le nombre de moustiques collectés n'est pas égal et que la TITC pourrait être une bonne alternative à la CSH. En effet, Govella et al., en 2009 rapportèrent que Ifakara B corrélait bien avec la CSH ($r = 0,73; p < 0,001$) dans une zone urbaine en Tanzanie (Govella et al., 2009). De même, Coulibaly et al., en 2012 ont rapporté que la tente piège Ifakara de type C corrélait bien avec la CSH ($r = 1; p = 0,003$) dans une zone sud soudanienne du Mali (Coulibaly et al., 2012). Nous pouvons dire qu'en termes de qualité et respect des normes éthiques, la TITC pourrait être une bonne alternative même si quantitativement son rendement est inférieur à celui de la CSH.

Par rapport à la composition de la faune anophélienne, nous avons collecté essentiellement des *An. gambiae s.l.* et un seul *An. funestus* en Septembre 2013 par la TITC.

Siaka Konaté en 2008 n'ayant pas utilisé les mêmes méthodes avait aussi collecté seulement 3 *An. funestus* contre 619 *An. gambiae s.l.* en Juillet et en Septembre 2008 dans la région de Sikasso au Sud du Mali. De même Muturi et *al.*, en 2006 n'ayant pas utilisé les mêmes méthodes avaient pu collecter 60 *An. funestus* sur 1979 moustiques en faune résiduelle.

La place d'*An. funestus* dans la transmission du paludisme est bien établie comme en a témoigné la résurgence des épidémies de paludisme dans le Kwazulu Natal en Afrique du Sud dans les années 90.

Ainsi que pour la filariose lymphatique, sa place comme vecteur est bien établie en Afrique de l'Ouest. Ce vecteur succède à l'*An. gambiae s.l.* selon un modèle de transmission dit de "relais" durant toute l'année (Touré, 1979; Brengues et *al.*, 1968).

Nous pouvons cependant expliquer la rareté de ce vecteur dans notre échantillon, peut-être par la faible densité de ce vecteur au niveau du site pendant notre période d'étude. Cette rareté s'explique par l'environnement de la zone qui ne dispose pas de cours d'eau ou de gîtes favorables à l'écologie de cette espèce.

6.2. Variation de l'agressivité moyenne mensuelle et du taux de parturité chez *An. gambiae s.l.* par mois de collecte selon les deux méthodes de capture

Il y a eu une variation assez importante et statistiquement significative entre le nombre de moustiques collectés selon les deux méthodes de capture durant les trois mois avec un ($p=0,04$). Les taux le plus bas et le plus élevé d'agressivité moyenne mensuelle pour la TITC et la CSH ont été respectivement enregistrés aux mois d'Octobre et Septembre (Figure 14). Cette tendance de l'agressivité moyenne mensuelle avait été déjà rapportée par plusieurs investigateurs maliens dans différents sites d'étude (Banambani dans la région de Koulikoro et Kolokoba dans la région de Sikasso) (Touré, 1979; Coulibaly, 2002 ; Balam, 2007). Nous pensons que cette observation serait due à l'abondance des pluies. Le taux de parturité d'*An. gambiae s.l.* des deux méthodes de capture ne variaient pas de manière significative entre les mois ($P>0,05$). Durant la période d'étude, le taux de parturité le plus bas a été enregistré au mois d'Aout (57,9%) par la TITC et le taux le plus élevé au mois d'Octobre (92,9%) par la CSH (Tableau II). Ceci pourrait s'expliquer par le risque élevé d'être exposé à l'infection dans la population. Ces taux de parturité témoignent à suffisance qu'un pourcentage élevé de moustiques étaient déjà vieille et donc potentiellement infectantes à *P. falciparum* et/ou *W. bancrofti*.

6.3. Variation du taux de co-infection à *W. bancrofti* et *P. falciparum* chez *An. gambiae s.l.* par mois de collecte selon les deux méthodes de capture

Sur un total de 1089 moustiques collectés par la CSH, le taux d'infection d'*An. gambiae s.l.* variait de 0,9% en Octobre 2013 à 4,7% en Août 2013 pour *W. bancrofti* (Tableau III), et de 1,6% en Octobre 2013 à 2,8% en Août 2013 pour *P. falciparum* (Tableau IV). Sur un total de 427 moustiques collectés par la TITC, le taux d'infection d'*An. gambiae s.l.* variait de 0,6% en Septembre 2013 à 1,03% en Octobre 2013 pour *W. bancrofti* (Tableau III), et de 1,03% en Octobre 2013 à 1,8% en Septembre 2013 pour *P. falciparum* (Tableau IV).

Le seul *An. funestus* capturé dans notre étude n'était pas infecté comme c'était le cas aussi pour les trois (3) *An. funestus* capturés par Siaka Konaté en 2008 à Sikasso au Mali.

Nous remarquons que les taux d'infection les plus élevés pour *W. bancrofti* et *P. falciparum* étaient les moustiques capturés par la CSH. Au vu de la prévalence de la FL de 13,6% dans la tranche d'âge de 18 – 45 ans (Diarra, 2012) et de celle du paludisme de 50% dans la population générale de Tiénéguebougou (EDSM-V), nous estimons que les moustiques gorgés ou pares étaient potentiellement dangereux et infectants et pourraient transmettre les parasites (*Wuchereria* et/ou *Plasmodium*) aux captureurs pendant les séances de captures nocturnes. Les captureurs en CSH courent un risque élevé de se faire infecter d'où les considérations éthiques qui en découlent. Par conséquent, nous pensons que la méthode de la TITC pourrait être utilisée comme alternative aux CSH pour évaluer les paramètres entomologiques de la transmission de ces deux maladies. Avec un IC 95% les taux de co-infection d'*An. gambiae s.l.* à *W. bancrofti* et *P. falciparum* obtenus par la CSH et la TITC du mois de Septembre respectivement 0,6% [0,02- 1,6] et 0,3% [0,09- 1,4] n'étaient pas différents (*Pool screen*). Les taux de co-infection des deux méthodes étaient similaires en Septembre 2013, mais ils étaient différents pendant les mois d'Août et d'Octobre 2013 (Tableau V). Sur un total de 1089 *An. gambiae s.l.* collectés par la CSH, le taux de co-infection a varié de 0,6% en Septembre 2013 à 3,4% en Août 2013. Sur un total de 427 *An. gambiae s.l.* collectés par la TITC, le taux de co-infection a varié de 0,3% en Septembre 2013 à 4,8% en Octobre 2013. Nous pouvons dire que nous avons eu un taux de co-infection faible, mais il attire l'attention sur la possibilité de transmission concomitante du paludisme et de la FL aux captureurs de moustiques. Siaka Konaté en 2008 n'avait trouvé aucun moustique co-infecté dans son étude. Muturi *et al.* en 2006 ont rapporté des taux de co-infection de 1,1% dans le village de Jilore et 1,6% dans le village de Shakahola au Kenya après avoir collecté un total de 1919 *An. gambiae s.l.* Siaka Konaté en 2008 avait déjà rapporté une fréquence relativement faible de co-infection dans la population adulte de Kolokoba à Sikasso, Mali.

CONCLUSION

VII. Conclusion-Perspectives

La TITC peut être une bonne méthode de collecte alternative à la CSH car elle est sensible et protège mieux les captureurs. Ce piège qui ne demande pas de personne qualifiée peut être un outil d'échantillonnage utile pour la surveillance de routine des moustiques qui transmettent le paludisme et la FL. Il peut aider les programmes tels que le PNLP (Programme National de Lutte contre le Paludisme) et le PNEFL dans leurs luttes contre les vecteurs.

Tout outil d'échantillonnage de moustiques, en plus d'être protecteur et sensible, doit également produire des estimations épidémiologiques représentatives de l'exposition humaine aux piqûres de moustiques et la transmission de l'agent pathogène (Service MW, 1977).

La TITC par rapport à la CSH est aussi capable de produire des estimations épidémiologiques représentatives de l'exposition humaine aux piqûres de moustiques et de déterminer le taux d'infection.

Au vu de ces résultats, nous pouvons donc recommander l'utilisation de la TITC comme alternative aux CSH ce qui permettrait de lever les contraintes éthiques liées aux collectes de moustiques par les CSH.

Cependant en terme de perspectives, il conviendrait de faire plus d'investigations dans d'autres faciès éco-climatiques pour mieux documenter la relation entre les deux méthodes de capture.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

IX. Références Bibliographiques

1. Adl S. M., Simpson A. G., Farmer M. A., Andersen R. A., Anderson O. R., Barta J. R., et al., (2005). The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J Eukaryot Microbiol* 52(5): 399-451.
2. Aubry Pierre. Filarioses lymphatiques: Médecine Tropicale. Mise à jour le 13/10/2014. Consulté le 27 Mars 2015.
http://medecinetropicale.free.fr/cours/filarioses_lymphatiques
3. Awono-Ambene., Kengne P., Simard F., Antonio-Nkondjio., Fontenille D. (2004). Description and Bionomics of *Anopheles (Cellia) ovengensis (Diptera: Culicidae)*, a New Malaria Vector Species of the *Anopheles nili* Group from South Cameroon. *J. Med. Entomol.* 41 (4): 561-568.
4. Balam, S. (2007). Impact du traitement de masse sur l'infection et la transmission de la filariose lymphatique par l'association Albendazole/Ivermectine en zone de savane sud soudanienne, Mali. Thèse de Médecine N°57 de la FMPOS de Bamako, Mali. PP: 99
5. Brengues J., Subra R., Mouchet J., Nelson GS. (1968). La transmission de *Wuchereria bancrofti* Cobbold en Afrique occidentale: Etude préliminaire d'un foyer de savane nord-guinéenne. *Bull. Wld Hith Org.* 38: 595-608.
6. Brunhes J. (1969). Nouvelles données sur les vecteurs de *Wuchereria bancrofti* à Madagascar. Influence de la température sur la vitesse de développement du parasite et le taux d'infection du vecteur. *Bull. Org. mond. Santé*, 40:763-769.
7. Burkot TR., Molineaux L., Graves PM., Paru R., Battistutta D., Dagoro H., et al., (1990). The prevalence of naturally acquired multiple infections of *Wuchereria bancrofti* and human malarias in anophelines. *Parasitology.* 3:369–375.
8. Carnevale P. (1974). Comparaison de trois méthodes de capture pour l'échantillonnage d'une population d'*Anophdes nili* (Theobald), 1904. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Elut. rnéd. et Parasitol.*, vol. XII, 2:135-144.
9. Chabasse D, Miegerville M. (2007). Enseignement de parasitologie et mycologie. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. 3^e édition).
<http://www.uvp5.univ-paris5.fr/campus-parasitologie>
10. Chadee DD., Rawlins SC., Tiwari TS. (2003). Short communication: concomitant malaria and filariasis infections in Georgetown, Guyana. *Trop Med Int Health*, 8: 140–143.

11. Clavel C., Bininger I., Polette M., Bouterin M.C., Birembaut P. (1993). Polymerase chain reaction (PCR) and pathology. Technical principles and application. *Ann. Pathol.*, 13 (2): 88-96.
12. Coetzee M, Hunt RH, Wilkerson R, della Torre A, Coulibaly MB, Besansky NJ. (2013). *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa*, 3619:246–274.
13. Coffinet T., Rogier C., Pages F. (2009). Evaluation of the anopheline mosquito aggressivity and of malaria transmission risk: methods used in French Army. *Med Trop*, 69 (2), 109-22.
14. Costantini C., Sagnon NF., Sanogo E., Merzagora L., Coluzzi M. (1998). Relationship to human biting collections and influence of light and bednet in CDC light-trap catches of West African malaria vectors. *Bull Entomol Res*, 88:503–511.
15. Costantini C., Gibson G., Brady J., Merzagoro L., Coluzzi M. (1993). A new Odour-Baited-Trap to collect host-seeking mosquitoes. *Parassitologia*, 35:5-9
16. Coulibaly, Y.I., Doumbia, S.S., Sanogo, Z.L., Keita, S.I., Dolo, H., Traore, S.F., et al., (2012). Alternative mosquito vector collection methods in a sudan savannah area of Mali that received five MDA rounds for lymphatic filariasis elimination. 61st Annual Meeting of ASTMH, November 11–15 Atlanta GA *Am J Trop Med Hyg.*, 87(5): 223 www.astmh.org
17. Coulibaly YI., Dao S., Traoré A K., Diallo A., Sacko M., Traoré SF. (2006). La présence et le risque de transmission de *Wuchereria bancrofti* est une réalité en milieu rural au Mali: le cas du village de Banambani dans le cercle de Kati. *Mali Medical*, 21:12-17
18. Coulibaly Y I. (2002). Etude des aspects parasitologiques, cliniques, entomologiques de la transmission de la filariose lymphatique en zone de savane soudanienne au Mali (Village de Banambani et de Sirakoro Niaré), Thèse de médecine N°38. PP:45-46
19. David Basile (2006). Dynamique de la faune culicidienne sur le campus de l'université de Yaoundé I (Cameroun). Université de Yaoundé I – Mémoire de DEA.
20. De Bruijn M.L.H. (1988). Diagnostic DNA amplification no respite for elusive parasite. *Parasitology Today*, 4: 293-295.
21. De Freitas RM., Eiras AE., de Oliveira RL. (2006). Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 101 (3): 321–325

22. Detinova T.S. (1945). Determination of the physiological female Anopheles from the changes of the tracheal system of the ovaris. *Med. Parazit. (mosk)*. 14:45
23. Diarra, B. (2012). Transmission de la filariose lymphatique dans 3 zones éco-climatiques et le delta intérieur du fleuve Niger au Mali, Thèse de Médecine N°182 de Bamako, PP: 42.
24. Doumbo O., Koita O., Traoré SF., Sangaré O., Coulibaly A., Robert V., et al., (1991). Les aspects parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme dans le sahara Malien. *Médecine d'Afrique Noire*, 32 (2): 103-109.
25. Ephantus JM., Benjamin GJ., Chang HK., Charles MM., Robert JN. (2008). Are coinfections of malaria and filariasis of any epidemiological significance? *Parasitology Research*; 102:175–181.
26. Ernst JS., Basilio NN., Renate CS., Willem T and Bart GJ. (2003). Infection of malaria (*Anopheles gambiae s.s.*) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Malaria Journal*; 2:29.
27. Gentilini M., Dufflo B. (2000). Les helminthiases: Les filarioses. Médecine tropicale, édition Flammarion.
28. Gerusa D., David A. (2003). Guide pratique pour la prise en charge des cas de lymphœdème. USA, *Hollis Publishing Company*
29. Gillies MT & De Meillon B. (1968). The Anophelinae of Africa South of Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region), 2nd edn. *South African Institute for Medical Research*, Johannesburg.
30. Govella NJ., Chaki PP., Geissbuhler Y., Kannady K., Okumu F., Charlwood JD., et al., (2009). A new tent trap for sampling exophagic and endophagic members of the *Anopheles gambiae* complex. *Malaria Journal*, 8:157
31. Govella NJ., Jason DM., Killeen GF. (2010). An Exposure-Free Tool for Monitoring Adult Malaria Mosquito Populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 83(3) : 596–600.
32. Govella NJ., Chaki PP., Mpangile JM., Killeen GF. (2011). Monitoring mosquitoes in urban Dar es Salaam: Evaluation of resting boxes, window exit traps, CDC light traps, Ifakara tent traps and human landing catches. *Parasit Vectors*, 4:40.
33. Hamon J., Mouchet J. (1961). Vecteurs secondaires du paludisme humain en Afrique. *Méd. Trop.* 21: 643-660.
34. Harbach RE. (2004). The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Ent. Res.*, 94: 537-553.

35. Hervy J.P., Le Goff G., Geoffroy B., Herve JP., Manga L., Brunhes J. (1998). Les anophèles de la région afro-tropicale, logiciel ORSTOM Ed.
36. Holstein M. (1949). Etude sur l'anophélisme en AOF, Soudan Français, Bamako. *Bull. Soc. Path*, 42: 374-378.
37. Innis MA., Gelfang DH., Sninsky JJ., Thomas JW. (1990). Optimization of PCR Protocols: A Guide to Methods and applications. *Academic Press Inc*, 3-12.
38. Katholi CR, Toe L, Merriweather A, Unnasch TR. (1995). Determining the Prevalence of *Onchocerca volvulus* Infection in Vector Populations by Polymerase Chain Reaction Screening of Pools of Black Flies. *Infectious Diseases J*. 172:1414-7
39. Kelly-Hope LA., Diggle PJ., Rowlingson BS., Gyapong JO., Kyelem D., Coleman M., et al., (2006). Short communication: Negative spatial association between lymphatic filariasis and malaria in West Africa. *Trop Med Int Health.*; 11(2):129–135.
40. Kelly-Hope LA., McKenzie FE. (2009). The multiplicity of malaria transmission: a review of entomological inoculation rate measurements and methods across sub-Saharan Africa. *Malar J*. 23; 8:19
41. Knols BG., de Jong R., Takken W. (1995). Differential attractiveness of isolated humans to mosquitoes in Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 89:604–606.
42. Koïta O. (1988). Epidémiologie du paludisme le long de la route transsaharienne du Mali. Thèse de Pharmacie de l'ENM, PP-26.
43. Krajacich BJ., Slade JR., Mulligan RT., Labrecque B., Kobylinski KC., Gray M., et al., (2014). Design and testing of a novel, protective human-baited tent trap for the collection of anthropophilic disease vectors. *J Med Entomol.*; 51(1): 253–263.
44. Le goff G., P. Carnevale & V. Robert. (1993). Comparaison des captures sur homme et au piège lumineux CDC pour l'échantillonnage des moustiques et l'évaluation de la transmission du paludisme au sud-Cameroun. *Ann.Soc. belge Méd. trop*, 73: 55-60.
45. Lindsay SW., Adiamah JH., Miller JE., Pleass RJ., Armstrong JR. (1993). Variation in attractiveness of human subjects to malaria mosquitoes (Diptera: Culicidae) in The Gambia. *J Med Entomol*, 30:368–373.
46. Lines JD., Curtis CF., Wilkes TJ., Njunwa KJ. (1991). Monitoring human-biting mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Tanzania with light-traps hung beside mosquito nets. *Bull Entomol Res*, 81:77–84.
47. Mathenge EM., Killeen GF., Oulo DO., Irungu LW., Ndegwa PN., Knols BG. (2002). Development of an exposure-free bednet trap for sampling Afrotropical malaria vectors. *Med Vet Entomol*, 16:67–74.

48. Mboera L.E.G., Knols B.G., Braks M.A.H., Takken W. (2000). Comparison of carbon dioxide-baited trapping systems for sampling outdoor mosquito populations in Tanzania. *Medical and Veterinary Entomology*, 14 (3): 257-263.
49. Mnzava AEP., Rwegoshora RT., Wilkes TJ., Tanner M., Curtis CF. (1995). *Anopheles arabiensis* and *Anopheles gambiae* chromosomal inversion polymorphism, feeding and resting behavior in relation to insecticide house-spraying in Tanzania. *Med Vet Entomol*, 9:316–324.
50. Moiroux, N. (2012). Modélisation du risque d'exposition aux moustiques vecteurs de *Plasmodium spp.* dans un contexte de lutte anti-vectorielle. Thèse de Doctorat N°0177. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc. PP:34.
51. Muturi E., Mbogo C., Ng'ang'a Z., Kabiru E., Mwandawiro C., Novak R., et al., (2006). Relationship between malaria and filariasis transmission indices in an endemic area along the Kenyan Coast. *J Vector Borne Dis*; 43 (2): 77–83.
52. Muturi JE., Mbogo C., Ng'ang'a Z., Kabiru E., Mwandawiro C., Beier J. (2006). Concomitant infections of *Plasmodium falciparum* and *Wuchereria bancrofti* on the Kenyan coast. *Filaria J*; 5:8.
53. Ndebele P., R Musesengwa. (2012). Ethical dilemmas in malaria vector research in Africa: Making the difficult choice between mosquito, science and humans. *Malawi Med J.*; 24(3): 65–68.
54. Ndiath MO., Mazenot C., Gaye A., Konate L., Bouganali C., Faye O., et al., (2011). Methods to collect *Anopheles* mosquitoes and evaluate malaria transmission: a comparative study in two villages in Senegal. *Malar J*, 10:270.
55. Odetoynbo J A. (1969). Preliminary investigation on the use of a light trap for sampling malaria vectors in the Gambia. *Bulletin of the World Health Organization*, 40: 547-560.
56. Odiere M., Bayoh M.N., Vulule J., Irungu L., Walker E. (2007). Sampling outdoor, resting *Anopheles gambiae* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Western Kenya with clay pots. *J Med Entomol*, 44:14–22.
57. Ong, C.W., Lee, S.Y., Koh, WH., Ooi, E.E., Tambyah PA. (2009). Monkey malaria in humans: a diagnostic dilemma with conflicting laboratory data. *Am J Trop Med Hyg.* 80(6):927-928.
58. Ottessen EA., Duke B, Karam MKB. (1997). Strategies and tools for control/elimination of lymphatic filariasis. *Bull World Health Organ.* 75:491–503

59. Overgaard H.J., Vamsi P.R., Simon A., Abraham M., Michael R.R., Vani Kulkarni., et al., (2012). Light traps fail to estimate reliable malaria mosquito biting rates on Bioko Island, *Equatorial Guinea. Parasites & Vectors*, 5:253.
60. Pichon G., Thirel R., Chebret M. (1979). Nouvelle approche de la périodicité chez la filaire *Wuchereria bancrofti* var. *pacifica*. *Cah. ORSTOM, sér.Ent.méd.Parasitol*, 17:89-105.
61. Service MW. (1977). A critical review of procedures for sampling populations of adult mosquitoes. *Bull Entomol Res.* 67:343–382.
62. Service MW. (1970). A battery-operated light-trap for sampling mosquito populations. *Bulletin of the World Health Organization*, 43: 635-641.
63. Service MW, Highton RB. (1980). A chemical light trap for mosquitoes and other biting insects. *Journal of Medical Entomology*, 17: 183-185.
64. Siaka Konate (2008). Coinfection filarirose et paludisme en zone savane sud-soudanienne N'tessonni, Sikasso (Mali). Aspect parasito-clinique et entomologique. Thèse de Médecine N°260 de Bamako-Mali. PP: 60-61
65. Sikaala CH., Killeen GF., Chanda J., Chinula D., Miller JM., Russell TL., et al., (2013). Evaluation of alternative mosquito sampling methods for malaria vectors in lowland south-east Zambia. *Parasit Vectors*, 6:91.
66. Singh B., Kim Sung L., Matusop A., Radhakrishnan A., Shamsul S.S., Cox-Singh J., et al., (2004). A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet*, 363: pp. 1017-1024.
67. Sudia WD. (1962). Battery operated light-trap, an improved model. *Mosq News*, 22:126–129.
68. Touré YT. (1979). Bio-écologie des anophèles (*Diptera, Culicidea*) dans une zone de savane soudanienne au Mali (village de Banambani). Incidence sur la transmission du paludisme et de la filarirose de Bancroft. Thèse de 3^{ème} cycle Centre Pédagogique Supérieur ; Bamako, Mali.
69. Touré, Y.T. (1982). Étude de la sensibilité d'*Anopheles funestus* et d'*Anopheles gambiae sensu lato* aux insecticides dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol*, 20(2): 125-131.
70. Valder SM., Nakao JC., Basio RG. (1971). Mosquito survey in Amlan, Negros Oriental. *Philippine Entomologist*, 2 (1): 83-87.

71. Vargas JA, Prusak Z, (1994). The status of *Aedes albopictus* within the Reedy Creek Improvement District, Orange County, Florida. *Journal of the Florida Mosquito Control Association*, 65: 12- 14.
72. Walther M., Tongren JE., Andrews L., Korbel D., King E., Fletcher H., et al., (2005). Up regulation of TGF-beta, FOXP3, and CD4+CD25+ regulatory T cells correlates with more rapid parasite growth in human malaria infection. *Immunity*. 23:287-296.
73. Wong J., Nabie B., Olang G., Gerry F K., Hamel M.J., Vulule J.M., et al., (2013). Standardizing operational vector sampling techniques for measuring malaria transmission intensity: evaluation of six mosquito collection methods in western Kenya. *Malar J.*, 12:143.
74. http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnaeb653.pdf
Enquête Démographique et de Santé du Mali (EDSM-V) 2012-2013. Rockville, Maryland, USA : CPS, INSTAT, INFO-STAT et ICF International. *Consulté le 30 Mai 2015.*
75. http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnadu829.pdf
Enquête sur la prévalence de l'Anémie et de la Parasitémie palustre chez les enfants (EA&P) au Mali (PNLP-Mali), 2010. *Consulté le 10 Février 2014.*
76. <http://www.rollbackmalaria.org/files/files/countries/naMali.pdf>
Initiative: Faire Reculer le Paludisme (*Roll Back Malaria*), PNLP- Mali (Juillet 2008). *Consulté le 10 Février 2014.*
77. OMS, (1975). Manual on Practical Entomology in Malaria, Geneve Part 1. *Consulté le 10 Février 2014.*
78. OMS, (2003). Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs: Guide du stagiaire. Provisoire, Genève. *Consulté le 10 Février 2014.*
79. Programme mondial pour l'élimination de la filariose lymphatique (2010). Relevé épidémiologique hebdomadaire. 85: 365-372.
80. Programme National d'Elimination de la FL (PNEFL), Mali 2004. *Consulté le 10 Octobre 2013.*
81. Rapport mondial sur le paludisme OMS 2014.
http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014. *Consulté le 10 Février 2014.*

ANNEXES

X. Annexes

10.1. Extraction de l'ADN matricielle : les provisions nécessaires par échantillon

1 grinding tube (tubes Eppendorf à fond rond de 2 ml)

1 Bille en zinc 2 tubes Eppendorf (1.5 ml)

1 tube column/wash DNeasy (dans le kit Qiagen)

1X PBS La solution Protéinase K (dans le kit Qiagen)

95-98% Et OH Solution AW1 (dans le kit), Solution AW2 (dans le kit), Solution AE (dans le kit Qiagen) Embouts de Pipettes

10.2. Le protocole de l'extraction de l'ADN matricielle

1. Ajoutez 1 bille en Zinc autoclave à chaque tube de 2 ml qui broiera les moustiques dans le tube
2. Mettre 20 moustiques dans le tube Eppendorf de 2 ml pour broyer (pour le contrôle positif, ajoutez 1 L3 dans le tube)
3. Ajoutez 180 μ l de 1x PBS
4. Enveloppez chaque tube avec le para film et attachez au Vortex en position horizontale pendant 15-20 mins à grande vitesse. Puis en position verticale sur le vortex pendant 5 mins a grande vitesse.
5. Centrifuger brièvement (1min ?) pour rassembler les débris loin de la fermeture du tube.
6. Ajoutez 20 μ l de Protéinase K (PK) et 200 μ l d'AL (les deux sont fournis avec le kit Qiagen). Mélangez immédiatement (3-5 secondes de vortex)
7. Incubez à 70°C x 10 mins. Centrifuger brièvement (5 mins ?) pour enlever le liquide de la fermeture du tube et prévenir la contamination croisée en ouvrant les tubes.
8. Ajoutez 20 μ l supplémentaires de PK. Et vortex brièvement
9. Incubez à 56°C pendant 1 heure.
10. Centrifuger à la vitesse maximum pendant 5 mins pour amasser les débris de moustique au fond du tube.
11. En centrifugeant, Mettre 200 μ l d'Et OH 95-98% Et OH dans un nouveau tube Eppendorf de 1.5 ml.
12. Après centrifugation, Transférez le surnageant dans le tube qui contient l'Et OH 95-98% et pipeter pour mélanger le surnageant avec l'Et OH.
13. Appliquez l'échantillon entier à la colonne DNeasy. (En utilisant un P1000 ?)
14. Centrifuger à 8000 x g (rcf) pendant 1 minute.
15. Déplacez la colonne sur un nouveau tube de Collection, ajoutez 500 μ l de la solution AW1 à chaque tube.

16. Centrifuger à 8000 x g (rcf) pour 1 minute.
17. Verser le liquide de décharge dans un vase de collection à bec, Renverser le tube de décharge sur le mouchoir et mettre la colonne encore sur le même tube de décharge.
18. Ajoutez un autre 500 µl de la solution AW1, centrifuger @ 8000 x g (rcf) pour 1 minute.
19. Mettre la colonne sur un nouveau tube de collection, ajoutez 500 µl de la solution AW2 à chaque tube.
20. Centrifugez à la vitesse maximale pendant 3 minutes.
21. Verser le liquide de décharge dans un vase de collection à bec, Renverser la colonne sur le mouchoir et mettre la colonne encore sur le même tube de décharge.
22. Centrifugez pour 3 mins supplémentaires à la vitesse maximale pour sécher la colonne.
23. Transférez la colonne un nouveau tube de collection étiqueté
24. Ajoutez 125 µl de l'éluat Buffer (AE) et laisser sur la membrane pour au moins 2 minutes.
25. Centrifugez à 8000 x g (rcf) pendant 2 mins, gardez la colonne dans le même tube de la collection
26. Ajoutez encore 125 µl de l'éluat Buffer (AE) et laisser sur la membrane pour au moins 2 minutes.
27. Centrifugez à 10,000 x g (rcf) pendant 2 mins, gardez la colonne dans le même tube de la collection.
28. Transférez l'éluat dans de nouveaux tubes Eppendorf de 1,5 ml (ils contiennent l'ADN extrait). Utilisez 1 µl d'extrait pour la réaction PCR.

10.3. Protocole de la réaction PCR

Les provisions dont on a besoin par échantillon:

- 1 tube PCR avec 1 boule (faite de DNTPs et de Taq polymérase)
- H₂O (eau distillée)
- Les amorces
- ADN (1 µl d'extrait pour le test ou d'ADN pour le contrôle) L'utilisation des contrôles est nécessaire:

1. contrôle positif pour l'extraction (1 L3 dans un tube avec 20 moustiques non infectés)

2. contrôle négatif pour l'extraction (20 moustiques non infectés)

3. contrôle positif pour la PCR (ADN de *W. bancrofti* ou extrait d'un moustique positif connu)

4. contrôle négatif pour la PCR (les mêmes ddH₂O seront utilisées pour volume total de la réaction PCR)

5. contrôle des inhibiteurs de la PCR: dans un autre tube Mettre 10 µl du control négatif pour l'extraction et 5 picogrammes de l'ADN de *W. bancrofti*; alors utilisez 1 µl de cela pour la PCR.

* Centrifugez les tubes avant de les mettre dans la machine PCR.

* La réaction PCR dans la machine se déroule comme suit:

a- Dénaturation à 94°C pendant 30 secondes au cours de laquelle les deux brins de la molécule d'ADN se séparent,

b- Appariement se passe à 56°C pendant 30 secondes où les amorces par jeu de la complémentarité des bases (A-T ; C-G) se fixent sur les différents brins séparés.

c- Extension se passent à 72°C pendant 30 secondes où sous l'action de la Taq polymérase les desoxynucleotides triphosphates (dNTPs) viennent compléter l'action des amorces.

En résumé la PCR permet à partir d'une seule molécule d'ADN d'obtenir deux molécules qui vont subir à 94°C une dénaturation suivie des autres phénomènes précédemment décrits.

Le cycle est repris plusieurs fois selon un programme préalablement enregistré dans la machine PCR.

FICHE DE DISSECTION POUR CSH / IFAKARA A TIENEGUEBOUGOU

Village :

Espèce disséquée :

Date :

Nombre disséqué :

Initial du technicien : _____

Poste	Tranche horaire	Nombre	Espèces	Réplétion	Parité	Infection	Autres espèces