

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

.....  
UFR/SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

.....  
Laboratoire d'Entomologie Appliquée

Centre National de Recherche et de Formation  
sur Le Paludisme (C.N.R.F.P.)

N° d'ordre



## THESE

Présentée pour l'obtention du titre de  
**Docteur en Sciences Biologiques Appliquées**  
Option : Entomologie médicale

par

**Edithe ILBOUDO-SANOGO**  
Sur le thème

**Influence des rideaux imprégnés d'insecticide  
sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme  
en zone rurale au Burkina Faso**

Soutenue le 27 Octobre 2001

Devant la commission d'examen

**Président :** Mme Isabelle A. GLITHO, Professeur, Université du Bénin, Lomé, Togo

**Membres :** Mr. Patoin Albert OUEDRAOGO, Professeur, Université de Ouagadougou,  
Directeur de Thèse

Mr. Fulvio ESPOSITO, Professeur, Université de Camerino, Italie  
Co-directeur de Thèse

Mr. T. Robert GUIGUEMDE, Professeur, Université de Ouagadougou,  
Rapporteur

Mr. Andrea BOSMAN, MD, PhD, Medical officer, OMS Genève, Suisse

## *Je dédie ce mémoire*

*A mes enfants Alioune et Ashken,*

*A mon époux Ibrahim,*

*Pour l'amour et la patience qui vous ont animés durant les années de préparation de ce mémoire. Puisse ce travail nous unir d'avantage.*

*A mon père et à ma mère,*

*Vous qui n'avez jamais cessé de m'encourager à poursuivre ma formation, la graine que vous avez semée a poussé et porte aujourd'hui des fruits. Puissiez-vous vous en régaler.*

*A mes frères et sœurs*

*Pour les soutiens multiformes que vous n'avez cessés de m'apporter tout au long de cette formation, puisse ce mémoire raffermir d'avantage nos liens.*

*A Madame Oumou Sanogo-Zoromé,*

*Ta disponibilité, ta patience et ton amour pour les enfants durant mes longues semaines d'absence m'ont permis d'effectuer sans aucun stress mes activités de formation à l'étranger. Profonde gratitude.*

## Remerciements

*Le travail présenté dans ce mémoire a reçu le support de UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR) et de l'Union Européenne (INCO-DC), l'aide de l'Agence Danoise pour le Développement International (DANIDA) et du Ministère de la Recherche Scientifique et Universitaire Italien. Il fait partie d'un programme d'activités conduites par le Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP), dans le cadre d'un accord de coopération bilatérale entre le Burkina Faso et la "Direzione Generale per la Cooperazione allo Sviluppo" du Ministère italien des Affaires Etrangères.*

*Je remercie très sincèrement la population des 158 villages de la zone protégée et des 8 villages hors zone pour leur coopération et leur disponibilité, le Ministère de la Santé du Burkina Faso, le Directeur Régional de la Santé de Ouagadougou et le Chef de Service du CNRFP, Dr Saïdou Ouili pour leur assistance dans la mise en oeuvre du projet.*

*Je remercie aussi Messieurs Alphonse Rouamba, Amidou Ouédraogo, Roland Koutiébou, Souleymane Sanon, Simon Pierre Zongo, Issa Konaté et Ibrahim Samandoulgou pour leurs contributions dans la supervision des activités de terrain.*

*L'aboutissement de ce mémoire a été l'œuvre de plusieurs personnes parmi lesquelles je voudrais tout particulièrement remercier:*

*Pr. Albert P. Ouédraogo : Professeur titulaire en Entomologie à l'Université de Ouagadougou. Vous êtes non seulement un enseignant pour moi, mais aussi un père ! C'est vous qui avez guidé mes pas dès mes premières années d'université ; vos conseils m'ont été des plus utiles. Vous m'avez fait l'honneur de diriger ce travail, je vous en suis très reconnaissante.*

*Pr. Fulvio Esposito : Professeur titulaire de la chaire de Parasitologie de l'Université de Camerino (Italie), Doyen de la faculté de Sciences Mathématiques, Physique et Naturelles de l'Université de Camerino, Expert dans le cadre de l'assistance technique de la coopération Italienne au CNRFP et Coordonnateur du projet financé par l'union européenne. Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté de co-diriger ce travail et de le juger. Vous avez été l'initiateur de ce projet et vous avez toujours encouragé les jeunes Burkinabè à progresser. Vous m'avez accueilli dans votre laboratoire de Camerino pour m'initier aux techniques de Biologie moléculaire. Votre rigueur et votre logique de raisonnement scientifique m'ont permis de bénéficier d'une formation exemplaire. Trouvez ici, l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Pr. Isabelle Glitho : Professeur titulaire d'Entomologie à la faculté des Sciences de l'Université du Bénin (Lomé), chercheur en agronomie. Vous avez prêté tout au long de la préparation de ce mémoire une oreille attentive à toutes mes sollicitations ; votre disponibilité à relire mes documents et vos prompts réactions à tous mes messages font de vous une femme exemplaire. Malgré vos nombreuses activités, vous avez accepté de présider le jury de cette thèse. Trouvez ici mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.*

*Pr. T. Robert Guiguemdé : Professeur titulaire en Parasitologie à l'Université de Ouagadougou, Docteur en Médecine, coordonnateur thématique Paludisme au centre Muraz. Vous vous êtes toujours intéressé à savoir si j'avais enfin pu commencer à préparer une thèse; notre dernier entretien à ce sujet date de novembre 1999, lorsque vous aviez une opportunité de formation à travers le CRSN. Cela fait partie de vos qualités humaines et de votre souci à former la relève de demain. Trouvez à travers ce document, un des fruits des efforts que vous n'avez cessés de consentir pour la formation de la jeune génération. Je vous remercie très sincèrement pour avoir accepté de faire un rapport sur ce travail et aussi de siéger dans le jury de cette thèse.*

*Dr. Andrea Bosman : Medical Officer à l'OMS de Genève, Docteur en Médecine. Ces dernières années, vous avez beaucoup soutenu le projet burkinabè sur l'impact des rideaux imprégnés à long terme sur la mortalité. Malgré vos nombreuses occupations à l'OMS, vous avez accepté de consacrer quelques jours de travail pour être présent à Ouagadougou, afin de participer à ce jury. Je vous en suis reconnaissante.*

*Pr. Mario Coluzzi : Professeur à l'Université la "Sapienza" de Rome (Italie). Dans cette coopération Italie/Burkina, vous êtes de ceux-là qui ont pour souci la formation des cadres Burkinabè. Vos qualités scientifiques ont toujours fait de vous un être admiré de tous. Vous m'avez fait l'honneur de faire un rapport sur ce mémoire. Je vous en suis très reconnaissante.*

*Pr. Martin Akogbeto : Entomologiste médical, Directeur du Centre de Recherches Entomologique de Cotonou (CREC). Trouvez ici, ma profonde reconnaissance pour avoir consacré un peu de votre temps précieux pour relire ce mémoire et pour avoir fait un rapport.*

*Pr. Yéya T. Touré : Professeur d'Entomologie médicale à l'Université de Bamako, Mali. Vous avez toujours su prodiguer les conseils justes à vos frères africains. Votre rigueur dans la recherche scientifique et vos qualités humaines font de vous un exemple dans la sous région. Vos occupations actuelles ne vous permettent pas de siéger dans le jury comme nous l'avions souhaité mais, je vous sais de cœur avec nous. Je vous remercie très sincèrement pour vos différentes contributions.*

*Dr. Nadine Cuzin-Ouattara : Chercheur au CNRFP. Ce mémoire est aussi le vôtre pour avoir participé à son élaboration du début à la fin. Votre disponibilité à relire tout document qui vous est soumis m'a permis un gain énorme en temps dans la rédaction de ce document. Votre soutien et vos encouragements ont été des plus utiles dans les moments difficiles. Trouvez ici, l'expression de ma très profonde gratitude.*

*Dr. Carlo Costantini : Entomologiste à l'Université la "Sapienza" de Rome (Italie), consultant en entomologie au CNRFP. Vous avez toujours prêté une oreille attentive à mes sollicitations. Vos conseils ont été des plus utiles dans l'élaboration de ce mémoire. Trouvez ici, l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Dr. Lansina Lamizana : Pharmacien, Directeur du laboratoire national de transfusion sanguine, ancien directeur du CNRFP. Vos qualités humaines et votre amour pour le travail bien accompli a forgé en moi dès mon arrivée dans vos services, le sens de la collaboration.*

*Dr. Simon Cousens bio-statisticien à la "London School of hygiene and Tropical Medicine" (Angleterre) pour votre hospitalité combien Africaine et vos nombreux conseils et contributions dans l'analyse des données collectées.*

*Dr. Annette Habluetzel, coordinatrice de la première phase du projet. Les bases que vous avez jetées au début de cette étude nous ont permis de la poursuivre sans grosses difficultés. Maintenant à Camerino, vous m'avez accueillie à bras ouverts lors de mes différents séjours italiens. Trouvez à travers ce document, l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Mademoiselle Fabiana Foresi : Etudiante à l'Université de Camerino (Italie), c'est avec vous que j'ai appris la technique PCR. Votre disponibilité et vos qualités humaines m'ont permis un séjour agréable à Camerino. Grâce à vous, je n'ai pas souffert de la barrière linguistique puisque vous avez accepté d'être mes oreilles et ma bouche. Trouvez ici mes sincères remerciements.*

*Mes collaborateurs du CNRFP Diallo, Nébié, Sirima , Sagnon, Konate, Convelbo : Vous avez donné ici un exemple de l'adage selon lequel l'union fait la force. En effet, vous avez chacun à votre manière participé à l'élaboration de ce document. Puisse ce mémoire être utile pour notre équipe.*

*Je voudrais remercier tout particulièrement Mr. Diallo D. pour son assistance dans l'analyse des données.*

*Je suis redevable à tout le personnel du CNRFP (ex-CNLP) en particulier l'équipe entomologique sans qui l'étude n'aurait pas été possible, à toutes les dames chargées de la saisie des données, sans oublier l'administration.*

# SOMMAIRE

<b>1. INTRODUCTION</b>	1
<b>2. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>2.1 Les moustiques vecteurs du paludisme</b>	6
2.1.1 <u>Position systématique</u>	6
2.1.2 <u>Biologie</u>	6
2.1.3 <u>Les vecteurs du paludisme au Burkina Faso</u>	9
2.1.4 <u>L'outil bio-moléculaire dans l'identification spécifique du complexe <i>An. gambiae</i></u>	10
<b>2.2 Les matériaux imprégnés d'insecticide dans la lutte contre le paludisme</b>	13
2.2.1 <u>Généralités</u>	13
2.2.2 <u>Impact des matériaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres entomologiques</u>	15
2.2.2.1 <i>Etudes à petite échelle</i>	15
2.2.2.2 <i>Etudes à large échelle</i>	16
<b>3. MATERIEL ET METHODES</b>	
<b>3.1 Matériel</b>	19
3.1.1 <u>Matériel biologique</u>	19
3.1.2 <u>Matériel technique</u>	19
<b>3.2 Méthodes</b>	25
3.2.1 <u>Site de l'étude</u>	25
3.2.1.1 <i>Situation géographique</i>	25
3.2.1.2 <i>Conditions climatiques</i>	25
3.2.1.3 <i>Peuplement et structure de la zone d'étude</i>	27
3.2.1.4 <i>Choix des villages et conception de l'étude</i>	29
3.2.2 <u>Type d'étude</u>	32
3.2.3 <u>Paramètres étudiés et méthodes d'échantillonnage</u>	32
3.2.4 <u>Période d'étude</u>	40
3.2.5 <u>Déroulement des activités</u>	40
3.2.5.1 <i>Sur le terrain</i>	40
3.2.5.2 <i>Au laboratoire</i>	43
3.2.6 <u>Ethique</u>	48
3.2.7 <u>Plan d'analyse des données</u>	48
<b>4. RESULTATS</b>	
<b>4.1 Résultats globaux</b>	53
4.1.1 <u>Enquêtes longitudinales</u>	53
4.1.2 <u>Enquêtes transversales</u>	53
<b>4.2 Résultats analytiques</b>	59
4.2.1 <u>Dynamique de la population vectorielle dans les 2 villages sentinelle de la zone témoin</u>	59
4.2.2 <u>Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres de la transmission</u>	64
4.2.2.1 <u>Effet des rideaux imprégnés d'insecticide sur l'agressivité de <i>Anopheles gambiae</i> s.l.</u>	65
4.2.2.1.1 <i>à l'intérieur des cases</i>	65
4.2.2.1.2 <i>à l'extérieur des cases</i>	71
4.2.2.2 <u>Influence des rideaux imprégnés d'insecticide sur les taux d'infection de <i>Anopheles gambiae</i> s.l.</u>	77

4.2.2.3 <i>Influence des rideaux imprégnés d'insecticide sur le taux d'inoculation entomologique de Anopheles gambiae s.l.</i>	81
4.2.2.4 <i>Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur la dynamique de la transmission</i>	85
4.2.3 <u>Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur le comportement de piqûre de Anopheles gambiae s. l.</u>	89
4.2.3.1. <i>Lieux de piqûre (Endophagie/exophagie)</i>	89
4.2.3.2 <i>Rythme d'agressivité</i>	90
4.2.3.3. <i>Anthropophilie de An. gambiae s.l.</i>	91
4.2.4 <u>Influence de la position des villages sur les paramètres de la transmission</u>	92
4.2.5 <u>Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur la distribution des espèces</u>	94
4.2.5.1 <i>Distribution spatiale des espèces de moustiques avant et après l'installation des rideaux imprégnés d'insecticide</i>	94
4.2.5.2 <i>Distribution de An. gambiae s.l. selon l'état de réplétion des femelles</i>	98
4.2.5.3 <i>Distribution spécifique de An. gambiae s.l.</i>	100
4.2.5.4 <i>Relation entre espèces (An. gambiae s.s., An. arabiensis) et degré d'infection</i>	103
4.2.5.5 <i>Relation entre espèces (An. gambiae s.s., An. arabiensis) et degré d'anthropophilie</i>	105
4.2.6 <u>Efficacité et rémanence de l'insecticide sur les rideaux</u>	107
<b>5. DISCUSSION</b>	
<b>5.1 Dynamique de la population vectorielle dans les deux villages sentinelle de la zone témoin</b>	108
<b>5.2 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres de la transmission</b>	109
5.2.1 <u>Aggressivité de Anopheles gambiae s.l.</u>	109
5.2.2 <u>Taux d'infection de Anopheles gambiae s.l.</u>	111
5.2.3 <u>Taux d'inoculation entomologique de Anopheles gambiae s.l.</u>	113
5.2.4 <u>Dynamique de la transmission</u>	113
<b>5.3 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur le comportement de piqûre de Anopheles gambiae s.l.</b>	114
5.3.1 <u>Lieux de piqûre (Endophagie/exophagie)</u>	114
5.3.2 <u>Rythme d'agressivité</u>	115
5.3.3 <u>Anthropophilie de An. gambiae s.l.</u>	116
<b>5.4 Influence de la position du village sur les paramètres de la transmission</b>	117
<b>5.5 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur la distribution des espèces</b>	117
5.5.1 <u>Distribution spatiale des espèces de moustiques avant et après l'installation des rideaux imprégnés d'insecticide</u>	117
5.5.2 <u>Distribution de Anopheles gambiae s.l. selon l'état de réplétion des femelles</u>	118
5.5.3 <u>Distribution spécifique de Anopheles gambiae s.l.</u>	119
5.5.4 <u>Relation entre espèces (Anopheles gambiae s.s., Anopheles arabiensis) et degré d'infection</u>	121
5.5.5 <u>Relation entre espèces (Anopheles gambiae s.s., Anopheles arabiensis) et degré d'anthropophilie</u>	122
<b>5.6 Efficacité et rémanence de l'insecticide sur les rideaux</b>	123
<b>6. CONCLUSION</b>	125
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	127
<b>ANNEXES</b>	

# **1. INTRODUCTION**

Le paludisme constitue le problème de santé publique le plus grave en Afrique au sud du Sahara : 270 à 480 millions de cas cliniques/an dont 140 à 280 millions touchent les enfants de moins de 5 ans (OMS, 1996). Seulement 7% de la population de la région africaine vit dans une zone où le risque d'avoir le paludisme est nul ou négligeable. Dans le monde, les décès dus au paludisme se situent entre 1,5 et 2,7 millions par an, la majorité (plus de 90%) étant relevée en Afrique.

Le paludisme est une parasitose transmise à l'homme par la piqûre infectée d'un moustique femelle du genre *Anopheles*. La lutte contre le paludisme prend donc en compte non seulement la réduction de la prévalence du parasite chez l'homme mais aussi celle du vecteur par différentes méthodes de lutte antivectorielle. La lutte contre les vecteurs du paludisme vise la réduction du contact homme - vecteur et à terme l'interruption de la chaîne de transmission.

La découverte du dichloro diphényl trichloréthane (DDT) en 1939 par Müller (prix Nobel en 1948) et des insecticides organiques de synthèse (organochlorés et organophosphorés) a été une révolution dans la lutte contre les insectes nuisibles pour l'homme en agriculture et en santé publique. D'une manière générale, les organochlorés agissent sur le système nerveux des insectes en perturbant les mécanismes de perméabilité aux ions sodium et potassium. Malheureusement, ils sont non biodégradables dans le milieu naturel et s'accumulent dans les chaînes alimentaires, de sorte que leur emploi est limité de nos jours. De plus, le développement du phénomène de résistance des insectes aux organochlorés constitue un autre frein à leur utilisation. Avec la découverte des dérivés organiques de l'acide phosphorique (organophosphorés) en 1942, des carbamates et des pyréthrinoïdes, l'homme a cru enfin disposer de moyens de lutte très efficaces qui lui permettraient l'éradication de certains arthropodes nuisibles et vecteurs de maladies. Malheureusement, cet espoir a été très

vite anéanti avec l'apparition de la résistance des insectes à ces substances. De nouveaux moyens de lutte ont dû être recherchés, parmi lesquels :

- La lutte physique ou écologique, basée sur la modification du biotope de l'insecte en supprimant tous les facteurs favorables à son développement. C'est une méthode de lutte très efficace si elle est associée à une éducation sanitaire, mais, sa mise en œuvre nécessite de grands moyens en équipement, en action sur l'environnement et en assainissement.
- La lutte biologique par l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs métabolites pour lutter contre les insectes. Dans le cadre de cette lutte, des bactéries entomopathogènes, comme *Bacillus sphaericus* et *Bacillus thuringensis*, se sont révélées très efficaces contre les larves de moustiques, de simulies et de phlébotomes (Majori *et al.*, 1987a ; Barbazan *et al.*, 1997 ; Skovmand et Sanogo, 1999). Cependant, la rémanence de ces bactéries dans les gîtes traités varie selon la formulation et la concentration utilisées (Hougard *et al.*, 1985).
- La lutte génétique basée sur " l'extinction " d'une population naturelle d'insectes en y introduisant des individus de la même espèce préalablement stérilisés; difficile à mettre en œuvre sur le terrain, cette méthode de lutte s'est parfois révélée efficace au laboratoire.
- L'utilisation d'attractifs sexuels, de phéromones et d'analogues d'hormones de croissance des insectes sont également des moyens de lutte contre les insectes nuisibles, ainsi, en Côte d'Ivoire, Doannio et coll. en 1986, ont pu sélectionner un mimétique d'hormone juvénile dénommé OMS 3019, capable d'inhiber l'émergence des adultes, 40 semaines après le traitement des gîtes.

La plupart de ces méthodes de lutte sont limitées dans leur utilisation à grande échelle par les moyens financiers. En effet, l'utilisation de mâles stériles nécessite par exemple l'élevage d'un nombre suffisant de cette population qui puisse à terme dominer la population sauvage.

De nos jours, les stratégies préconisées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS,1993) dans la lutte contre le paludisme s'articulent sur 4 axes fondamentaux devant être appliquées selon les circonstances locales. Ce sont :

- le diagnostic précoce et le traitement rapide des cas de paludisme ,
- la mise en œuvre de mesures de prévention sélectives et durables, y compris la lutte antivectorielle ;
- la détection précoce, l'endiguement et la prévention des épidémies,
- le renforcement des capacités locales en matière de recherche fondamentale et appliquée, et la promotion d'évaluations régulières de la situation du paludisme dans les pays touchés. Ces évaluations portent notamment sur les déterminants écologiques, sociaux et économiques de la maladie.

De ces composantes fondamentales de la stratégie mondiale, le Burkina Faso a retenu les suivantes, conformément aux stratégies identifiées par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) en 1993 :

- le diagnostic précoce et le traitement approprié des cas,
- la chimioprophylaxie des femmes enceintes,
- l'éducation pour la santé et la participation communautaire,
- l'utilisation de matériaux imprégnés d'insecticide (MII)

Ces stratégies sont malheureusement confrontées au phénomène de résistance : celle des parasites aux antipaludiques dans le cas du traitement et de la chimioprophylaxie et celle des insectes aux insecticides utilisés pour l'imprégnation des différents matériaux, en

particulier des moustiquaires et rideaux. En plus de cela, la précocité du diagnostic dépend de la rapidité avec laquelle les patients se présentent dans les services de santé et des moyens dont disposent ces structures. Une fois le diagnostic effectué, le patient doit disposer de moyens financiers pour payer le service rendu et les médicaments prescrits. Toutes ces dispositions constituent un frein à l'accès aux soins par les populations pauvres qui représentent la couche la plus touchée par le paludisme.

En dépit de la possibilité de développement de la résistance des insectes aux insecticides, l'utilisation des MII initiée par l'OMS, d'abord à petite échelle dans les années 80 puis à large échelle dans les années 90, suscite beaucoup d'espoir dans la lutte contre le paludisme. Des résultats encourageants ont été obtenus sur la mortalité infantile (Alonso *et al.*, 1993 ; D'Alessandro *et al.*, 1995 ; Binka *et al.*, 1996 ; Nevill *et al.*, 1996 ; Habluetzel *et al.*, 1997) et de bons résultats ont été enregistrés sur les paramètres entomologiques. Au Burkina Faso, Majori et coll. (1987b) ont obtenu une réduction du taux de piqûre de *An. gambiae s.l.* de 98,6% un mois après l'installation à petite échelle des rideaux imprégnés d'insecticide (RII), un taux de mortalité des vecteurs 20 fois plus élevé dans les cases protégées par les RII que dans les cases sans RII et une endophagie réduite d'environ 1,3 fois.

La plupart des études sur les MII ont été ponctuelles et peu d'entre elles se sont intéressées à l'impact à long terme de ces matériaux sur la mortalité et les paramètres entomologiques. L'essai à large échelle mis en œuvre au Burkina Faso à partir de 1993 dans la province de l'Oubritenga est à ce point original qu'il est le seul au monde à avoir un tel historique dans le suivi de l'impact à long terme des RII sur la mortalité infantile et sur les paramètres entomologiques.

Les résultats présentés dans ce mémoire concernent le suivi des paramètres entomologiques de 1993 à 1999, soit 7 années de suivi dont 3 à 6 ans avec les RII. Ils

cherchent plus particulièrement à montrer si les RII ont modifié les paramètres de la transmission du paludisme, changé le comportement de piqûre des vecteurs et révélé un impact sur la distribution des espèces et plus particulièrement sur la distribution spécifique à l'intérieur du complexe *An. gambiae s.l.*. Pour ce dernier volet, les outils de la biologie moléculaire ont été utilisés.

Les objectifs de notre étude s'articulent ainsi :

- Objectif principal : étudier l'évolution des paramètres entomologiques de la transmission du paludisme suite à l'introduction des RII
- Objectifs spécifiques :
  - mesurer l'impact des RII sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme ;
  - mettre en évidence les éventuels changements dans le comportement de piqûre de *An. gambiae s.l.* 3 à 5 ans après l'introduction des RII ;
  - mesurer l'impact des RII sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme selon la position des villages dans la zone d'étude ;
  - mesurer l'impact des RII sur la distribution spatiale des espèces de moustiques dans la zone d'étude ;
  - mesurer l'impact des RII sur la distribution spécifique du complexe *An. gambiae s.l.*

## **2. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES**

## 2.1 Les moustiques vecteurs du paludisme

### 2.1.1 Position systématique

Selon la classification de Belkin, en 1962, les vecteurs du paludisme sont des insectes appartenant à l'ordre des Diptera, au sous ordre des Nematocerae, à la famille des Culicidae, à la sous famille des Culicinae, à la tribu des Anophelini et au genre *Anopheles* Meigen, 1818, dans lequel on peut distinguer plusieurs sous genres.

Environ 400 espèces appartenant à ce genre sont rencontrées dans le monde. Parmi celles-ci, seulement une soixantaine transmet le paludisme dans les conditions naturelles et 30 sont d'importance majeure (Bruce-Chwatt, 1985).

### 2.1.2 Biologie

Le développement de toutes les espèces de moustiques se caractérise par deux phases : la première est aquatique et recouvre la vie pré-imaginale, c'est-à-dire l'œuf, les stades larvaires et la nymphe. La seconde est aérienne et concerne l'adulte ou imago.

La phase aquatique commence avec la ponte des œufs qui, chez les anophèles, sont déposés isolément dans un milieu aquatique favorable à leur développement. Environ 100 à 400 œufs sont déposés par la femelle à chaque cycle de ponte. Ils sont munis d'une petite excroissance ou flotteur qui leur permet de se maintenir à la surface de l'eau durant l'embryogénèse. Dans les conditions favorables, ils éclosent en 48-72h pour donner des larves de premier stade (Rodhain et Perez, 1985).

La larve est un animal aquatique vorace possédant les 3 tagmes caractéristiques des insectes c'est à dire la tête, le thorax et l'abdomen. Son développement comporte 4 stades larvaires séparés par trois mues successives. La vie larvaire dure de 8 à 12 jours dans des conditions favorables (Rodhain et Perez, 1985), puis la larve de stade 4 subit une mue particulière, la nymphose pour donner la nymphe.

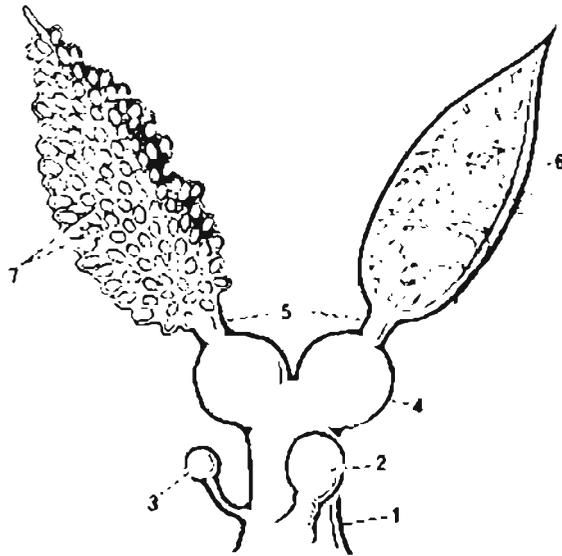
La nymphe est un animal mobile qui ne mange pas, et reste peu accessible aux insecticides. Le stade nymphal dure 2 à 3 jours ; c'est un stade de transition au métabolisme très actif au cours duquel on observe de très profondes transformations morphologiques et physiologiques qui aboutissent au stade adulte aérien.

L'adulte est un insecte dont le corps comprend une tête, un thorax qui porte 3 paires de pattes et une paire d'ailes, et un abdomen segmenté. La sortie de l'adulte du cocon nymphal (émergence) est une période de forte mortalité car, à ce moment, l'insecte se trouve exposé sans défense à de nombreux prédateurs de surface ou à la noyade. L'émergence dure environ 15 min puis l'adulte s'envole et les femelles s'accouplent avec des mâles plus âgés volant en essaim au-dessus de l'eau (les moustiques mâles du genre *Anopheles* ne peuvent s'accoupler qu'après une rotation de 180° de leur appareil copulateur ; ce processus dure plus de 24 h). Chaque femelle s'accouple avec un seul mâle de l'essaim.

L'accouplement, qui ne se fait qu'une seule fois dans la vie du moustique, s'effectue en vol et les spermatozoïdes, introduits dans la bourse copulatrice de la femelle, migrent dans une spermathèque, sorte d'annexe du système sexuel femelle, dans laquelle ils conservent leur pouvoir fécondant jusqu'à la mort de la femelle (Bruce-Chwatt, 1985 ; Rodhain et Perez, 1985). La figure 1 schématise l'appareil génital femelle d'un moustique du genre *Anopheles*.

Mâles et femelles se nourrissent de jus sucrés, nectars et autres exsudats végétaux. Le mâle est incapable de perforer la peau d'un vertébré. Seule la femelle est hématophage. Le repas sanguin n'est pas indispensable à sa survie, mais il l'est à la maturation ovarienne en ce sens qu'il lui procure les protéines nécessaires à la maturation de ses ovocytes.

Après 24 – 48h de vie adulte, la femelle va à la recherche de son premier repas de sang. Ce repas ayant approximativement le même poids que celui de la femelle elle-même, celle-ci est obligée de se reposer pour commencer la digestion au lieu même du prélèvement



**Figure 1** : Système reproducteur chez la femelle du genre *Anopheles*

1=oviducte commun ; 2=bourse copulatrice; 3=spermathèque ; 4=ampoules ovariennes ; 5=oviductes ovariens ; 6=ovaire montrant les trachéoles peletonnées d'une femelle prégravide; 7=ovaire avec des follicules en développement.  
(d'après Bruce-Chwatt (1985), amendé de Russel *et al.*, (1963)).

de sang. C'est donc une période d'inactivité du moustique, de durée variable, à l'intérieur de la case si au moment du prélèvement du repas sanguin il s'y trouvait. La femelle peut ensuite quitter ce lieu (la case) soit au cours de la même nuit, soit au crépuscule le jour suivant. Elle peut y demeurer pour achever la digestion du repas sanguin (Wernsdorfer et McGregor, 1988). La digestion du sang varie de deux à quelques jours selon les conditions environnementales. Les femelles de beaucoup d'espèces du genre *Anopheles* ont besoin d'au moins 2 repas sanguins avant que les premiers ovocytes ne puissent se développer (Bruce-Chwatt, 1985). Dans les cycles suivants, les ovocytes produits par les ovaires se développent après chaque repas sanguin.

La fécondation de l'ovule a lieu un instant avant la ponte au moment où il se présente dans le vagin (oviducte commun) au niveau de l'ouverture du canal de la spermathèque, les spermatozoïdes étant libérés à partir de celle-ci. La fusion des pronucleus mâle et femelle ou amphimixie se produit au cours de la première heure qui suit la ponte.

La période qui va du repas sanguin à la ponte est appelée cycle gonotrophique ; elle est d'environ 48h dans des conditions de températures (moyennes jour-nuit) comprises entre 23 et 25°C (Bruce-Chwatt, 1985). Après chaque ponte, la femelle recherche dans la même nuit un autre repas sanguin. De façon générale, le repas de sang se fait sur un seul hôte par nuit.

### 2.1.3 Les vecteurs du paludisme au Burkina Faso

Les principales espèces de moustiques vecteurs du paludisme en Afrique tropicale sont celles du complexe *Anopheles gambiae s.l.*. Au Burkina Faso, en plus des espèces de ce complexe *Anopheles funestus s.l.* assure aussi la transmission du paludisme. Il s'agit également d'un complexe d'espèces comprenant au moins deux unités taxonomiques (Costantini *et al.*, 1999b).

*An. gambiae s.l.* se développe dans des flaques d'eau temporaires propres et bien ensoleillées alors que *An. funestus s.l.* se développe dans des collections d'eau profondes, claires, à caractère permanent ou sub-permanent et ombragé. Il est possible de le rencontrer à 2000m d'altitude où sa densité est parfois supérieure à celle de *An. gambiae s.l.*.

#### 2.1.4 L'outil bio-moléculaire dans l'identification spécifique du complexe *An. gambiae*

Jusque dans les années 1950, *An. gambiae* Giles, 1902 était considéré comme une espèce unique. Ce sont les travaux de Davidson en 1956 qui ont permis d'émettre les premiers doutes quant à l'hypothèse de l'espèce unique. En effet, Davidson en étudiant le mode d'héritage de la résistance de *An. gambiae* Giles au dieldrine observa que le croisement d'un individu résistant à un individu sensible donnait une génération F1 dont les mâles étaient stériles, alors que les femelles, apparemment normales, pouvaient être croisées avec n'importe quelle souche parentale (Davidson, 1956). Elle a alors pensé que cette stérilité était associée à la résistance au dieldrine. En 1962, 64 des 210 croisements possibles entre 15 souches de *An. gambiae* Giles, provenant de différentes régions de l'Afrique occidentale et orientale révélèrent l'existence de deux groupes (A et B) à l'intérieur de chacun desquels les individus étaient interféconds ; par contre, le croisement entre un individu du groupe A avec un autre du groupe B donnait une génération F1 dont les mâles étaient stériles (Davidson et Jackson, 1962). Dans chacun de ces deux groupes A et B, il y avait des souches résistantes au dieldrine et il n'y avait aucune évidence d'une relation entre les groupes de souches et la distribution géographique ou climatologique ; de plus, parmi les individus résistants ou sensibles issus de "backcross", il y avait des mâles stériles et non stériles. Les auteurs conclurent donc qu'il n'y avait aucun lien entre la stérilité des mâles et la résistance, et qu'il y avait une divergence dans l'espèce *An. gambiae* Giles qui, peut-être se produisait indépendamment dans différentes

parties de l'Afrique. Ce sont les travaux ultérieurs de croisement entre chacun de ces groupes et d'autres souches provenant d'eau saumâtre de la même espèce qui ont conduit à la conclusion que *An. gambiae* était un complexe d'au moins 4 formes partiellement incompatibles qui, selon Davidson (1962), ne pouvaient pas être considérées comme des espèces séparées puisqu'un flux génétique restreint était possible lors de "backcross" au moins au laboratoire. D'autres travaux montreront plus tard qu'il s'agissait d'un complexe d'au moins 5 formes (Davidson *et al.*, 1967) et en 1973, Davidson et Hunt identifièrent une sixième espèce provisoirement appelée espèce D du complexe. C'est la cytogénétique, utilisant les chromosomes polythènes des moustiques qui montrera que le complexe *An. gambiae* est constitué de 6 espèces jumelles indissociables morphologiquement. Il s'agit de : *An. gambiae* s. s. Giles, 1902, *An. arabiensis* Patton, 1905, *An. melas* Theobald, 1903, *An. merus* Doenitz, 1902 *An. quadriannulatus* Théobald, 1911 et *An. bwambae* White, 1985. Tout récemment, une septième espèce a été décrite en Ethiopie et a été provisoirement désignée sous le nom de *An. quadriannulatus* B à cause de sa très proche ressemblance à *An. quadriannulatus* Théobald (Hunt *et al.*, 1998).

En Afrique tropicale, 5 de ces espèces sont vectrices du paludisme humain (Service, 1985). *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis*, deux des plus importants vecteurs dans cette région du monde vivent souvent en sympatrie mais forment très rarement des hybrides, environ un cas sur quatre mille (Coluzzi *et al.*, 1979). Les trois autres sont d'importants vecteurs dans des zones géographiques limitées, avec *An. melas* et *An. merus* respectivement rencontrés dans les eaux saumâtres de l'Afrique occidentale et orientale, et *An. bwambae* dans la vallée du Rift, entre l'Ouganda et le Zaïre (Service, 1985). Seules *An. quadriannulatus*, espèces zoophiles du complexe, rencontrées en Afrique orientale et centrale, ne se trouvent pas impliqués dans la transmission du paludisme. *An. gambiae* s.s. est probablement le plus important vecteur du complexe mais, sa sympatrie avec *An. arabiensis*, ou parfois même avec d'autres espèces du

même complexe, limite les efforts menés vers une définition précise du rôle relatif de chacune de ces espèces dans la transmission du paludisme et des conditions écologiques de leur distribution (Collins *et al.*, 1987).

Quoique le critère pour diviser un taxon en groupe d'espèces soit l'incompatibilité reproductive, les seuls caractères fiables pour distinguer les membres du complexe *An. gambiae s.l.* étaient jusqu'alors les différences observées sur les dessins des bandes des chromosomes polytènes observés soit dans les glandes salivaires chez les larves, soit dans les cellules nourricières du tissu ovarien chez les adultes femelles (Coluzzi, 1968 ; Coluzzi et Sabatini, 1967). *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis*, deux des plus importants vecteurs du paludisme en Afrique tropicale, étaient habituellement différenciés sur cette base.

D'autres techniques basées sur le profil chromatographique des hydrocarbures cuticulaires (Carlson et Service, 1980 ; Hamilton et Service, 1983) ou sur les fréquences de certains isoenzymes (Miles, 1978) se sont révélées moins fiables que celle basée sur les chromosomes polytènes (Collins *et al.*, 1987). Cependant, toutes ces méthodes, y compris la plus fiable, présentent des limites (Collins *et al.*, 1987 ; Scott *et al.*, 1993). Ainsi, la méthode cytologique nécessite une très bonne adresse et n'est applicable que sur des moustiques femelles gravides ou sur des larves de stade 4 (Collins *et al.*, 1987 ; Fontenille *et al.*, 1993). L'analyse des isoenzymes ne peut être réalisée que sur des échantillons vivants ou du matériel fraîchement congelé, et la technique de l'hydrocarbure cuticulaire, quoique applicable sur des échantillons secs, n'est malheureusement réalisable que sur un nombre très limité de spécimens car nécessitant beaucoup de temps (Collins *et al.*, 1987).

Les contraintes imposées par les méthodes disponibles ont motivé les scientifiques à en rechercher d'autres basées sur l'Acide Désoxyribo Nucléique (ADN) pour distinguer les membres du complexe *An. gambiae s.l.* Ces méthodes ont l'avantage d'utiliser l'ADN qui est une molécule stable dans les conditions appropriées et de s'appliquer à tous stades de

développement du moustique et à tout sexe. L'ADN des gènes de l'Acide Ribo Nucléique ribosomal (ARN ribosomal ) ou " rDNA " était ciblé dans ces approches à cause de son nombre élevé de copies, de la présence de zones de séquences différentes et spécifiques aux espèces, de la présence dans chaque cistron d'une région codante et de moins de séquences spatiales conservées (Collins *et al.*, 1987 ; 1988 ; Scott *et al.*, 1993). Ainsi, deux méthodes utilisant des sondes d'ADN marquées par radioactivité ont été mises au point par Collins et coll. (1987). Malheureusement, ces méthodes étaient trop compliquées pour une large application, car elles nécessitent des conditions d'hybridation et des systèmes de détection auto-radiographiques (Paskewitz et Collins, 1990).

La réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction, PCR) mise au point par Mullis de l'équipe de Erlich (Cetus Corporation) en 1985 (Kaplan et Delpech, 1993), se présente alors comme une alternative qui pourrait être adaptée pour une utilisation de masse. C'est une méthode d'amplification enzymatique d'un fragment spécifique d'ADN, qui utilise une enzyme de polymérisation de l'ADN (ADN polymérase) thermostable et de simples brins d'amorces d'ADN dérivés des séquences de fragments cibles (White *et al.*, 1989). En d'autres termes, la méthode est basée sur la répétition de réplifications *in vitro* de l'ADN à partir d'amorces spécifiques, en passant éventuellement par l'ARN. Cette technique a été appliquée pour l'identification des espèces du complexe *An. gambiae s.l.* en 1990 par Paskewitz et Collins. En 1993, Scott et coll. ont mis au point le protocole technique basé sur l'amplification d'une petite quantité d'ADN en présence de trois amorces différentes.

## **2.2 Les matériaux imprégnés d'insecticide dans la lutte contre le paludisme**

### **2.2.1. Généralités**

De tout temps, les hommes ont cherché à se protéger contre les insectes nuisibles, soit en les éliminant, soit en élevant une barrière physique ou chimique pour éviter le contact

homme - insecte. L'éloignement des habitations des marais était prôné par Hippocrate comme mesure de prévention des fièvres. Des moyens divers d'isolement des dormeurs existent sur des estampes d'il y a plusieurs siècles. Depuis les temps bibliques, les moustiquaires étaient utilisées pour se protéger contre les piqûres de moustiques et autres insectes (Lindsay et Gibson, 1988). Cependant, l'isolement total du dormeur par la moustiquaire est rarement obtenu, puisque le tulle, fragile, est vite percé, offrant ainsi un chemin de passage aux moustiques agressifs ; de plus la moustiquaire peut simplement être mal fermée permettant ainsi l'accès des moustiques jusqu'au dormeur; elle constitue d'ailleurs pour les entomologistes un piège pour les collectes des espèces anthropophiles. Enfin, si le dormeur se colle à la moustiquaire il peut être piqué à travers le tulle. C'est pour améliorer les performances des moustiquaires, que l'idée de les imprégner d'insecticide est née. Cette idée serait originaire des armées soviétiques (Blagoveschensky *et al.*, 1945), américaines et allemandes (Harper *et al.*, 1947) au cours de la deuxième guerre mondiale, qui utilisaient des moustiquaires imprégnées d'insecticide à effet rémanent pour protéger les troupes contre les piqûres de moustiques. Après plusieurs essais, la famille des pyréthrinoïdes a été retenue comme étant la meilleure pour les imprégnations de tissus à la fin des années 70, à cause de son pouvoir insecticide élevé et sa faible toxicité pour les mammifères. Les matériaux imprégnés d'insecticide (MII) ont alors commencé à être utilisés comme moyen de protection contre les piqûres de moustiques. De l'Afrique jusqu'à l'extrême Orient, des études avaient montré que ces MII avaient un impact sur divers paramètres entomologiques, notamment la diminution du contact homme vecteur (Darriet *et al.*, 1984 ; Ranque *et al.*, 1984 ; Lines *et al.*, 1985).

## 2.2.2 Impact des matériaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres entomologiques

### 2.2.2.1 *Etudes à petite échelle*

Les premières études sur les MII, effectuées en Afrique à petite échelle, ont révélé une protection individuelle efficace grâce à une importante réduction du nombre de piqûres reçues par ceux qui utilisaient les MII comparativement à ceux qui n'en possédaient pas (Darriet *et al.*, 1984 ; Ranque *et al.*, 1984 ; Lines *et al.*, 1985 ; Snow *et al.*, 1987a). La plupart de ces études ont été menées avec des moustiquaires imprégnées d'insecticide ; cependant, tenant compte des habitudes culturelles de certaines populations et de leurs moyens financiers, une autre alternative était l'utilisation des rideaux, avec lesquels Lines et coll. (1985) observèrent une forte réduction du taux d'entrée des moustiques dans les cases et une stimulation de ceux qui y accédaient à en ressortir immédiatement après le repas sanguin.

Au Burkina Faso, la première étude sur l'utilisation de rideaux imprégnés d'insecticide (RII) fut celle conduite par Majori et coll. en 1987b. Ces auteurs ont observé une réduction spectaculaire des paramètres entomologiques dans les cases avec RII. En effet, le taux de piqûre était réduit de 98,6%, le taux de mortalité des vecteurs était 20 fois plus élevé que dans les cases sans RII, l'endophagie était réduite d'environ 1,3 fois. Par la suite, Pietra et coll. (1991) observèrent dans un village du même pays, une réduction de 99,5% des densités de *An. gambiae s.l.* au repos dans les cases. Ces auteurs notèrent également que l'agressivité due au vecteur était réduite de 83% à l'intérieur des cases du village protégé ; à l'extérieur des cases, cette baisse était de l'ordre de 50 à 84%. Le niveau de transmission du paludisme dans ce village avait baissé aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des cases suite à l'introduction des RII. Cependant, les résultats parasitologiques et cliniques, obtenus dans des pays à faciès épidémiologiques différents montraient dans le meilleur des cas, une efficacité modérée des MII (Ranque *et al.*, 1984 ; Graves *et al.*, 1987 ; Snow *et al.*, 1987b). Ainsi, au Burkina,

Procacci et coll. (1991) ont conclu que les RII contrôlaient effectivement la morbidité palustre, mais seulement en période de faible transmission.

#### 2.2.2.2 Etudes à large échelle

La première étude à large échelle concernant l'impact des MII sur la mortalité des enfants, conduite en Gambie en 1991, a montré une réduction de 60% de la mortalité chez les enfants de 1 à 4 ans (Alonso *et al.*, 1993). Dans cette étude, l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide était associée à une chimioprophylaxie au Maloprim. Ces résultats encourageants d'une étude techniquement limitée ont conduit l'OMS à initier 4 essais à large échelle au Kenya, au Ghana, en Gambie et au Burkina Faso. L'objectif était d'évaluer avec plus de rigueur l'impact de l'utilisation des MII sur la mortalité toutes causes confondues dans ces sites à faciès épidémiologiques différents.

Au Kenya, la mortalité infantile toutes causes confondues a été réduite de 33% suite à l'introduction de moustiquaires imprégnées d'insecticide et le paludisme sévère réduit de 44% chez les enfants de 1 à 59 mois (Nevill *et al.*, 1996). Au Ghana, il a été observé sur 2 ans une réduction de 17% de la mortalité toutes causes confondues chez les enfants de 6 mois à 4 ans (Binka *et al.*, 1996). En Gambie, cette réduction s'est élevée à 25 % (D'Alessandro *et al.*, 1995) et au Burkina Faso, à 15% chez les enfants de 6 à 59 mois, sur 2 ans avec des rideaux imprégnés d'insecticide (Habluetzel *et al.*, 1997).

Les résultats entomologiques de ces études à large échelle montrent, au Burkina Faso, une réduction successive des densités de *An. gambiae s.l.* à l'intérieur des cases au cours des deux années d'étude ; cette réduction était très remarquable dans les cases protégées par les RII, où à partir de densités cumulatives de 7000 à 8000 femelles par case durant la période mi août fin novembre 1993, on est passé à des densités de l'ordre de 30 femelles par case après deux ans d'intervention (Cuzin-Ouattara *et al.*, 1999). Les indices sporozoïtiques,

relativement stables dans les villages contrôle, diminuent successivement avec les années de suivi dans les villages intervention. Les taux d'inoculation entomologique (TIE) pour la période mi août fin novembre passaient de plusieurs centaines de piqûres infectées par personne en année de base à l'ordre d'une à moins d'une piqûre infectante, deux ans après l'installation des RII ; un tel déclin du TIE n'était pas observé dans les villages contrôle. Les auteurs notaient que les RII réduisaient l'exposition aux piqûres infectées de *An. gambiae s.l.* de plus de 95% et montraient que les RII procuraient non seulement une protection individuelle mais agissaient aussi sur la population vectorielle totale puisqu'une réduction de l'ordre de 50% des densités à l'extérieur et à l'intérieur des cases non protégées était observée suite à l'introduction des RII (Cuzin-Ouattara *et al.*, 1999 ; Ilboudo-Sanogo *et al.*, 2001). Au Kenya, MBOGO *et coll.* (1996) notaient entre mai 1994 et avril 1995 une réduction des densités vectorielles suite à l'introduction de moustiquaires imprégnées de perméthrine, mais aucun impact n'a été observé sur l'indice sporozoïtique et sur l'indice d'anthropophilie du vecteur. Ils ont cependant noté une tendance de *An. gambiae s.l.* à piquer plus tôt à l'extérieur des cases, une diminution des densités au repos à l'intérieur des cases et une baisse de la proportion des femelles gorgées à l'intérieur des cases. Les résultats entomologiques de la Gambie montrent une réduction significative des densités de *An. gambiae s. l.* au repos à l'intérieur des cases, sans aucune augmentation du taux de piqûre de ce vecteur à l'extérieur des cases (Thomson *et al.*, 1995). Ces auteurs n'ont observé aucune réduction de l'indice sporozoïtique de *An. gambiae s. l.* au cours de cette étude, et aucune évidence d'une action des moustiquaires imprégnées d'insecticide sur la population vectorielle totale, ou " effet de masse " (Thomson *et al.*, 1995). Au Ghana, les résultats entomologiques montraient une réduction des agressivités à l'intérieur des cases non protégées par les moustiquaires imprégnées de perméthrine dans les villages intervention, comparativement à ce qui est observé dans les cases des villages non protégés (Binka, 1997). Cet auteur note une réduction

du nombre de piqûres infectées par personne et par année, passant de 100 – 1000 avant l'intervention à 30 – 300 après l'intervention et une baisse de l'indice sporozoïtique dans un seul des 3 villages d'intervention.

Beaucoup d'autres études dans le monde ont rapporté des résultats intéressants sur l'impact des matériaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres entomologiques de la transmission (Magesa *et al.*, 1991 ; Karsh *et al.*, 1993 ; Lindsay *et al.*, 1993 ; Magbity *et al.*, 1997 ; Quinones *et al.*, 1997,1998).

### **3. MATERIEL ET METHODES**

### 3.1 Matériel

#### 3.1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé était constitué par des moustiques du genre *Anopheles*, notamment les 2 espèces principales : *An. gambiae s.l.* Giles 1902 et *An. funestus s.l.* Giles, 1900. Les autres espèces ou genres, tels que *Culex*, *Aedes*, et les autres anophèles étaient comptabilisés et pris en compte dans l'étude de la fréquence des différentes espèces dans la zone.

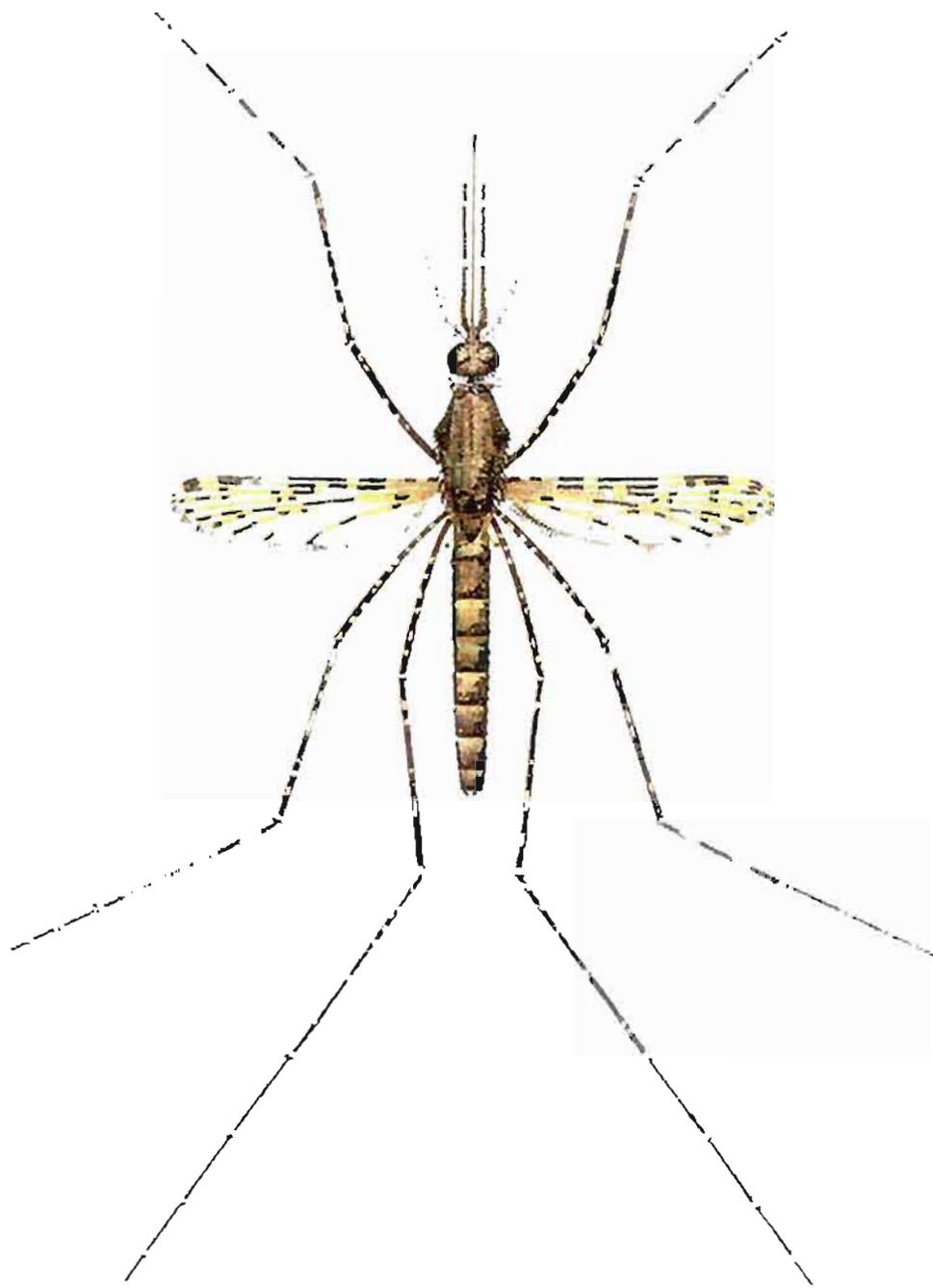
Sur le plan morphologique, *An. gambiae s.l.* se distingue de *An. funestus s.l.* par la taille, la couleur du corps et celle des pattes en particulier : *An. gambiae s.l.* est un moustique de grande taille, de couleur marron ayant des pattes annelées de blanc (figure 2). *An. funestus s.l.* au contraire est un moustique plus petit, de couleur gris brillant, avec des pattes toutes noires (figure 3).

Dans toutes les expériences utilisant l'homme, des précautions ont été prises pour sa protection contre les piqûres de moustiques et autres dangers dans la manipulation de certains produits insecticides.

#### 3.1.2 Matériel technique

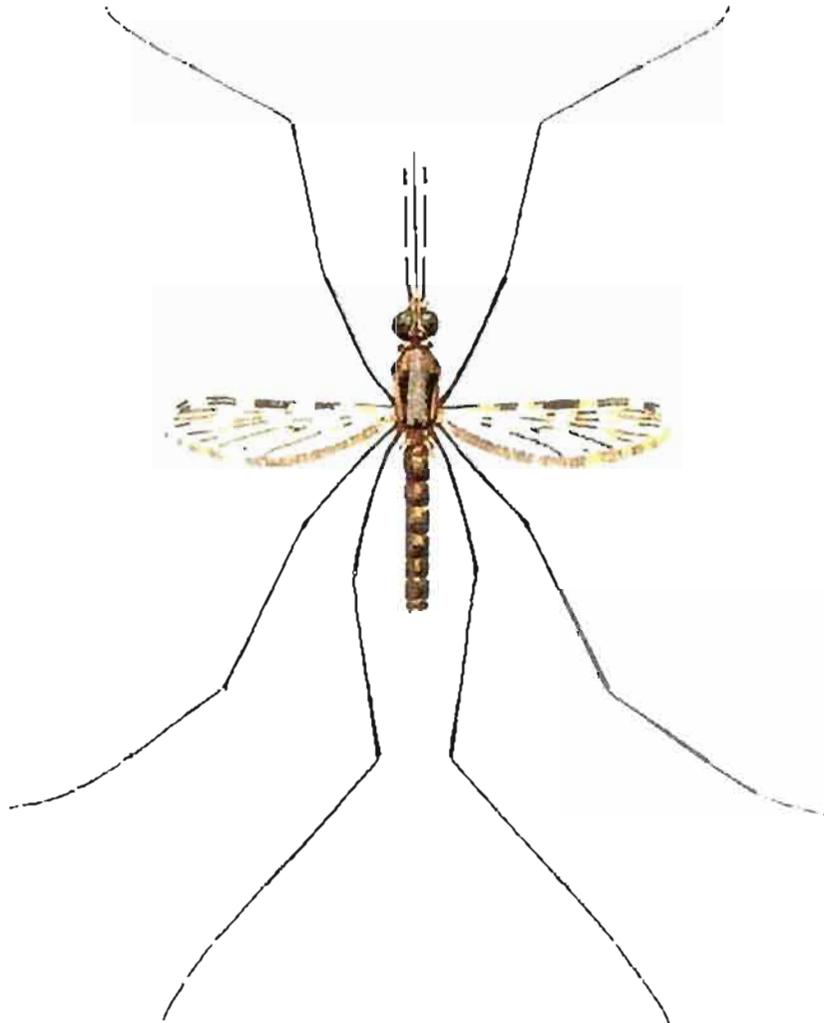
Ce matériel est représenté par :

- les pièges lumineux CDC (John W.Hock Company, Gainesville, Florida) utilisés pour la capture nocturne de moustiques auprès d'un homme dormant sous une moustiquaire simple non imprégnée d'insecticide. Chaque piège lumineux est composé d'une lampe alimentée par une batterie de 6 V 150mA, d'un petit ventilateur qui tourne grâce à la même batterie et aspire



js

Figure 2 : *Anopheles gambiae* s.l. (d'après Evans, 1938)



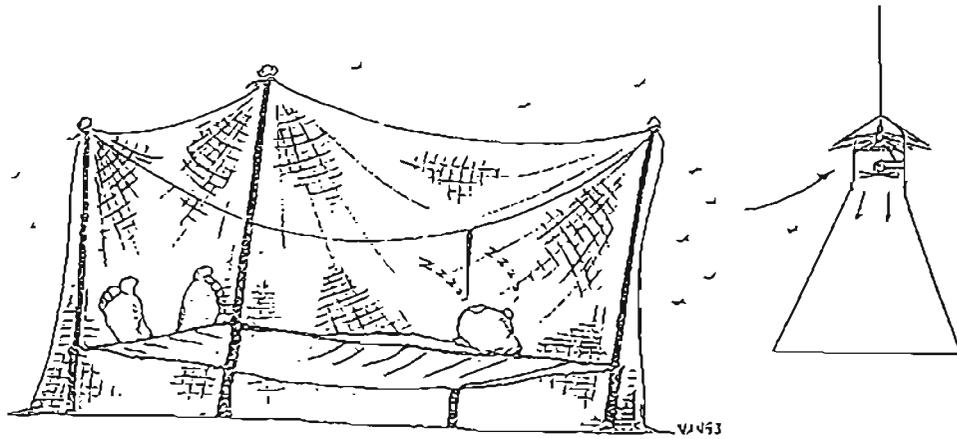
**Figure 3:** *Anopheles funestus* s.l. (d'après Evans, 1938)

les moustiques et d'un sac qui recueille les moustiques capturés. Ces pièges étaient utilisés pour remplacer les captures nocturnes sur homme, trop contraignantes et difficiles à mettre en œuvre à grande échelle (Lines *et al.*, 1991). Elles permettaient de déterminer le nombre de moustiques qui venait pour piquer la personne couchée sous la moustiquaire (figure 4).

Le principe du piège lumineux CDC est de capturer, grâce à l'action attractive de la lumière incandescente et des odeurs du dormeur combinées à l'utilisation d'une moustiquaire simple non traitée, les moustiques venant pour piquer.

- les insecticides à base de pyrèthre, présentés sous forme de bombes aérosols, utilisées pour la capture matinale de moustiques à l'intérieur des cases après pulvérisation de l'insecticide. Pour réaliser ce type de capture, des draps de couleur blanche de préférence sont étalés sur le sol des cases à pulvériser afin de recueillir les moustiques qui tomberaient sous l'effet de l'insecticide : "knock down". Les moustiques tombés sur les tissus étalés sont transférés dans des boîtes de Pétri à l'aide de pinces entomologiques et transportés au laboratoire. Ces captures permettent de récolter la faune résiduelle matinale, c'est à dire les moustiques qui, après avoir piqué, se reposent dans les cases jusqu'au moment de la capture. Ce type de captures est communément appelé captures après pulvérisation d'un insecticide à base de pyrèthre (CP)

- Les aspirateurs à bouche ou à pile utilisés pour collecter les moustiques femelles au repos dans les cases grâce à la lumière d'une lampe torche. Les femelles ainsi capturées sont transférées dans des gobelets en carton et ramenées vivantes dans les villages pour tester leur sensibilité aux RII installés dans les cases grâce à des essais biologiques dits`bio-essais. Ce type de capture est appelé capture manuelle (CM).



**Figure 4** : Schéma et principe du piège lumineux CDC

- Les rideaux et banderoles, en tissu tulle moustiquaire (polyester, 100 Deniers, Siamdutch Co., Thaïlande) utilisés pour protéger les ouvertures des cases contre l'accès des moustiques. Les rideaux sont conçus avec des anneaux latéraux d'accrochage de manière à bien tenir le tissu en place. Bien utilisés après imprégnation, ils constituent de véritables barrières contre les moustiques.

- La perméthrine, utilisée pour l'imprégnation des rideaux et banderoles. C'est un concentré émulsifiable de nom commercial Imperator 50EC (Zeneca/ICI, UK), à la concentration de 500 grammes de matière active par litre de solution, appartenant à la famille des pyréthriinoïdes. La perméthrine a été le premier pyréthriinoïde explicitement recommandé par l'OMS pour le traitement des tissus (OMS, 1990). Avec une demi-vie de 28 jours au maximum, la perméthrine se dégrade dans le sol selon un processus menant à des produits moins toxiques. Elle est relativement non toxique vis-à-vis des oiseaux, mais très fortement toxique pour les arthropodes aquatiques et les poissons. Vis-à-vis des mammifères, la toxicité est variable et dépend de la formulation, du solvant et de l'isomère en présence (OMS, 1990; Zerba, 1988). Il n'y a aucune indication que la perméthrine ait des effets toxiques sur l'homme lorsqu'elle est utilisée comme il se doit. Les pyréthriinoïdes sont des esters d'acide carboxylique offrant plusieurs avantages pour l'imprégnation des tissus : effet irritant, action rapide et grande efficacité contre les insectes malgré les petites quantités utilisées.

La plupart des pyréthriinoïdes utilisés pour l'imprégnation des tissus, en particulier la deltaméthrine et la lambdacyhalothrine, provoquent des sensations de brûlure sur la peau et les muqueuses. C'est pourquoi il est recommandé d'observer certaines mesures de protection lorsque l'on manipule ces insecticides. En général le port de gants, de masques de protection des voies respiratoires et de lunettes sont les précautions les plus importantes à prendre avant toute manipulation de ces produits.

## 3.2 Méthodes

### 3.2.1 Site de l'étude

#### 3.2.1.1 *Situation géographique*

L'étude s'est déroulée au Burkina Faso sur le plateau Mossi, dans la province de l'Oubritenga. La zone d'étude couvrant environ 1/3 de la province est située entre 15 et 50 km au nord de Ouagadougou (figure 5), entre les latitudes 12°28' et 12°47' au nord de l'équateur, et les longitudes 1°13' et 1°32' à l'ouest du méridien zéro.

#### 3.2.1.2 *Conditions climatiques*

Le climat est caractéristique des régions de savane soudanienne avec une saison sèche et froide de novembre à janvier (température moyenne mensuelle = 26,4 °C), une saison chaude et sèche de février à mai (31,2°C) et une saison de pluies de juin à octobre (28,5°C). La pluviométrie moyenne enregistrée à Guilongou, village situé dans la zone d'étude, était de 662 mm en 1993, 860 mm en 1994, 609 mm en 1995, 637 mm en 1996, 842 mm en 1997, 831 mm en 1998 et 772 mm en 1999 (*Direction de la Météorologie Nationale, Ministère des Transports, Ouagadougou, Burkina Faso*). La transmission du paludisme y est très élevée et saisonnière. Les principaux vecteurs du paludisme sont *An. gambiae* s.s., essentiellement la forme chromosomique Mopti (Petrarca *et al.*, 1986), *An. arabiensis* et, dans une moindre importance, *An. funestus* s.l. (Petrarca *et al.*, 1986 ; Majori *et al.*, 1987b). *Plasmodium falciparum* est l'espèce de parasite palustre prédominant, rencontré chez plus de 95% des enfants infectés de paludisme ; une minorité d'enfants avait des infections simultanées à *P. malariae* et à *P. ovale* (Esposito *et al.*, 1988; Habluetzel *et al.*, 1999).

## **BURKINA FASO**

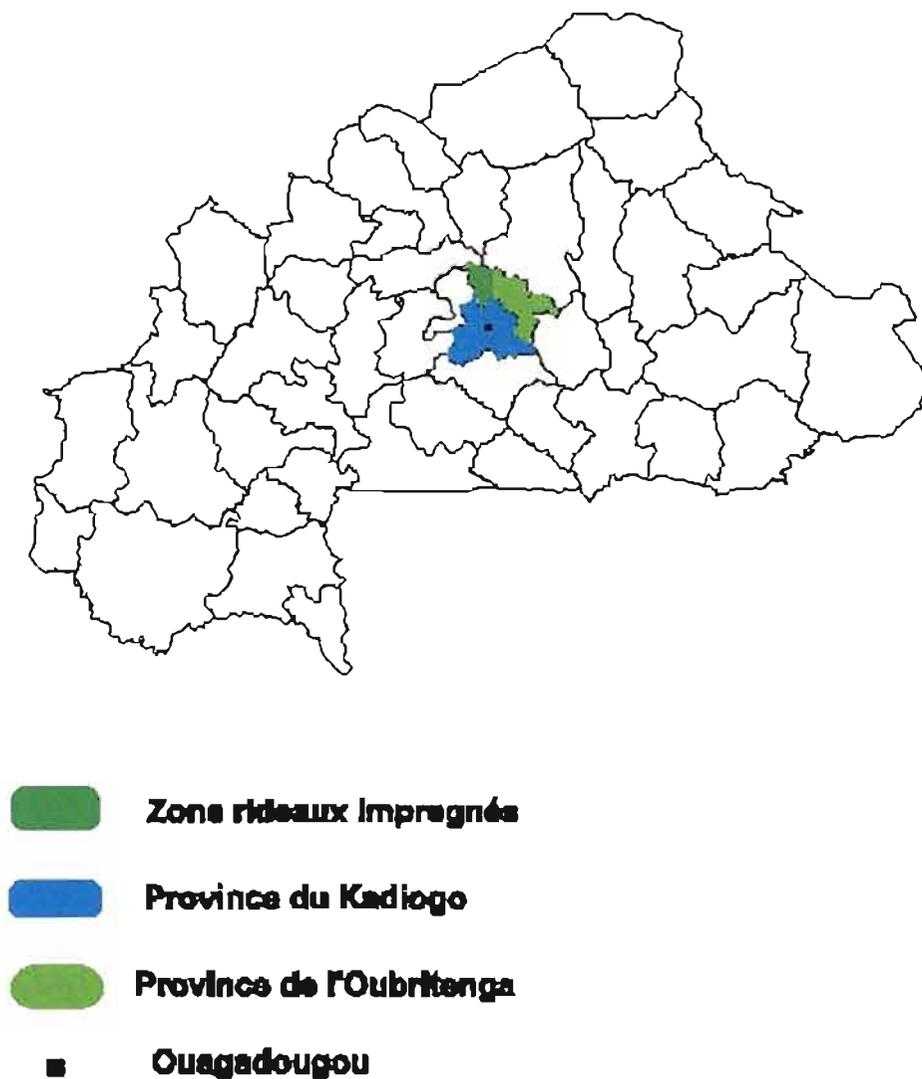


Figure 5 : Carte du Burkina Faso indiquant la zone d'étude dans la province de l'Oubritenga

### 3.2.1.3 Peuplement et structure de la zone d'étude

La population appartient presque exclusivement au groupe ethnique Mossi et vit d'une agriculture de subsistance. Les principales cultures de céréales sont le mil, le sorgho, les pois de terre et le maïs. Dans les villages situés près de réservoirs d'eau, un important jardinage est pratiqué pendant la saison sèche. Les villages sont constitués d'un ensemble de concessions séparées par des champs.

Les concessions types se composent de 2 cases carrées et de 3 à 4 cases rondes construites avec des briques en banco (terre mouillée) et entourées d'un mur également en banco. Les cases rondes ont un toit conique en paille tandis que les cases carrées ont un toit en tôles ou en bois recouvert de banco (figure 6). En général, les femmes dorment dans les cases rondes avec leurs petits enfants, alors que les hommes occupent les cases carrées. Chaque garçon adulte possède sa propre case et les grands enfants qui n'ont pas leur case personnelle dorment avec d'autres adultes de la famille.

Les lits sont fréquemment rencontrés dans les cases des hommes mais très rarement dans celles des femmes et des enfants. En dépit de la très forte nuisance due aux moustiques, les moustiquaires sont rarement utilisées. La petite taille des cases de la zone, la petitesse de leurs ouvertures, la rareté des lits, et surtout le faible coût des rideaux par rapport aux moustiquaires nous ont conduit à proposer les rideaux comme meilleure mesure de contrôle des vecteurs par rapport aux moustiquaires. Des études sur les RII conduites dans quelques villages burkinabè ont montré que cette mesure était bien acceptée par la population (Majori *et al.*, 1987b, Pietra *et al.*, 1991; Procacci *et al.*, 1991).

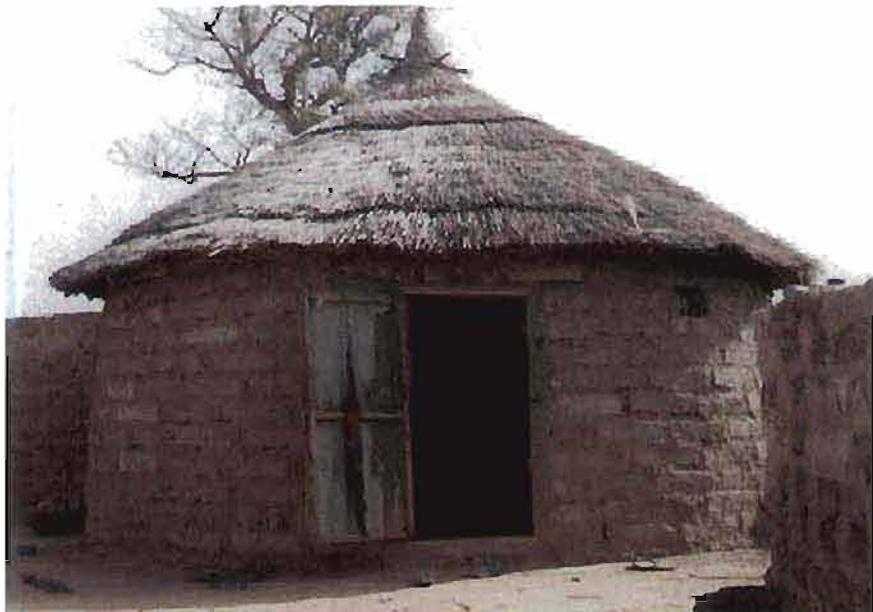
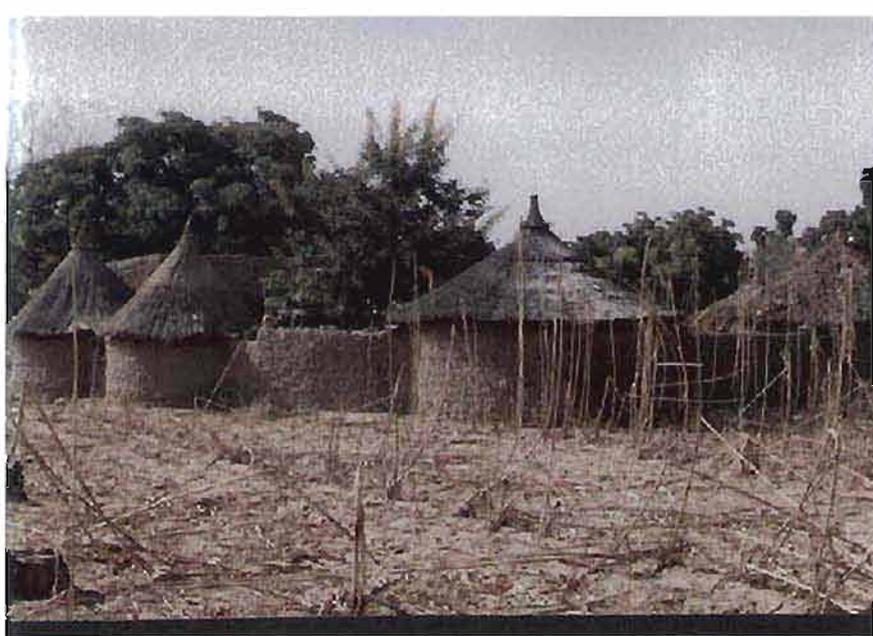


Figure 6: Concession avec case carrée et case ronde et dans la zone d'étude

#### *3.2.1.4 Choix des villages et conception de l'étude*

Afin d'évaluer l'impact des rideaux imprégnés d'insecticide (RII) sur la mortalité toutes causes confondues chez les enfants de 6 à 59 mois, 158 villages d'une population totale d'environ 90 000 habitants étaient inclus dans un grand essai contrôlé et randomisé de rideaux imprégnés de perméthrine. La zone d'étude était divisée en 16 secteurs d'environ 10 villages couvrant chacun une superficie de 40 à 80 km<sup>2</sup> (figure 7). Des précautions étaient prises pour s'assurer que cette subdivision ne passait pas au milieu de villages. Les 16 secteurs étaient appariés selon une base écologique et démographique. A l'intérieur de chaque paire, un tirage au sort était effectué pour attribuer le traitement, c'est à dire les RII. Huit premiers secteurs ont reçu les RII en juin/juillet 1994 pendant que les huit autres servaient de contrôle. En juin/juillet 1996, les secteurs contrôle recevaient également les RII. Huit villages choisis en dehors de la zone d'étude servaient alors pour la comparaison. Les rideaux, traités par trempage dans une solution de perméthrine à la dose cible de 1 gramme de matière active par mètre carré de tissu (1g/m<sup>2</sup>), étaient utilisés pour protéger toutes les ouvertures des maisons (portes, fenêtres, lucarnes, ouvertures entre pans de mur et toit en paille des cases rondes) contre les moustiques vecteurs du paludisme.

Parmi les 158 villages de la zone d'étude, 4 étaient choisis pour étudier l'évolution des paramètres parasitologiques et entomologiques de la transmission du paludisme. Deux de ces 4 villages appartenaient au groupe ayant reçu les RII en 1994, et les deux autres faisaient partie de celui les ayant reçu en 1996.

Les critères de choix de ces 4 villages ont porté sur l'accessibilité en toute saison, la taille moyenne du village (50-60 concessions) et l'existence ou non de retenues d'eau permanentes (barrages). L'accessibilité en toute saison était une condition nécessaire dans le choix des villages sentinelle dans la mesure où elle nous permettait non seulement de collecter

**ZONE D'ETUDE DU PROJET RIDEAUX IMPREGNES DANS LA PROVINCE DE L'OUBRITENGA**

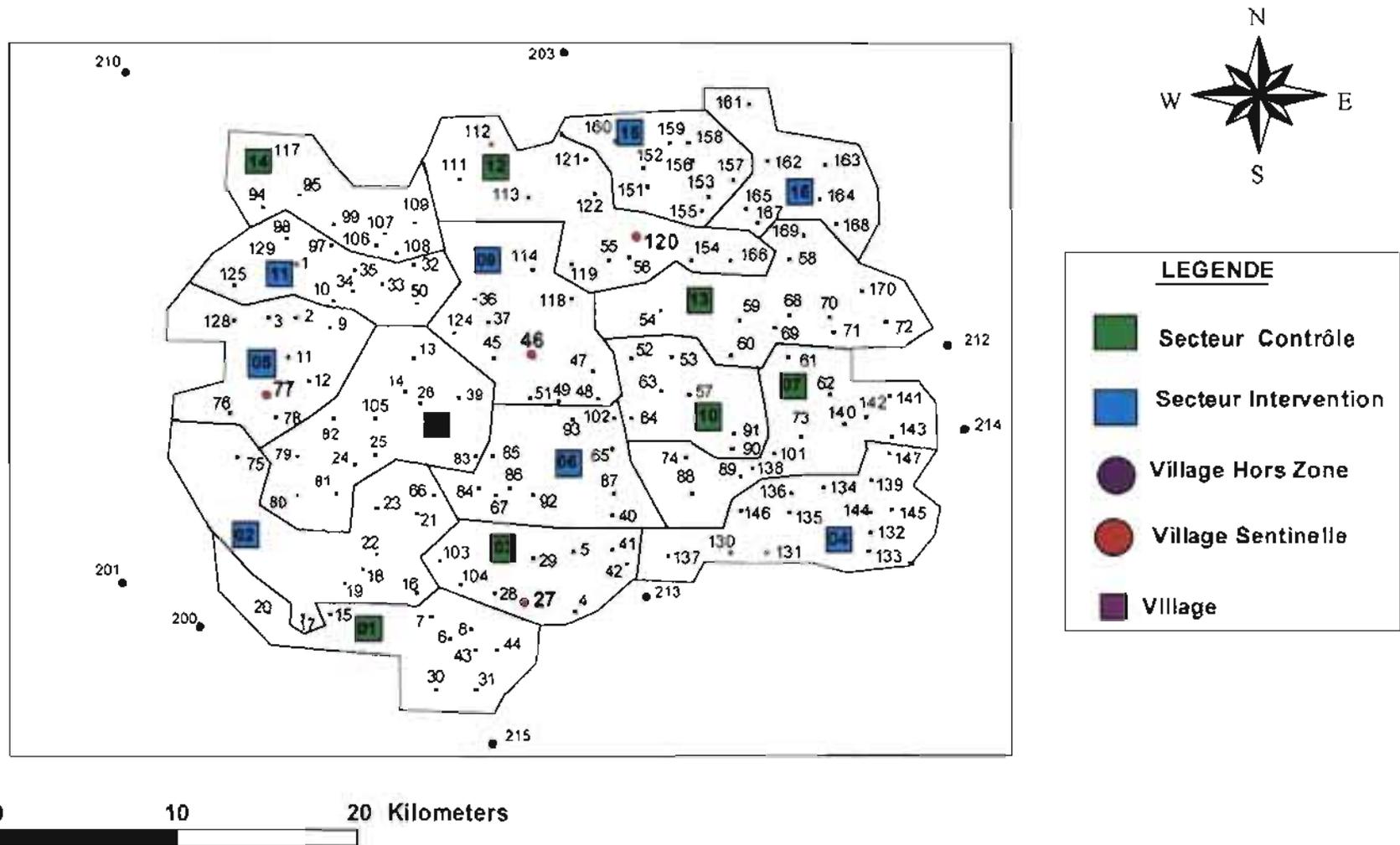


Figure 7 : Zone d'étude du projet

nos données en toute saison, mais aussi et surtout de communiquer avec les communautés impliquées dans l'étude chaque fois que de besoin. Il était aussi nécessaire d'avoir des villages de taille moyenne pour faciliter la supervision des activités. La présence ou non de barrage nous permettait de prévoir l'existence ou l'absence de gîtes permanents de moustiques dans les villages concernés. Ainsi, 4 villages étaient identifiés pour servir de villages sentinelle. Il s'agissait de : Nounou, Watinoma, Somnaway et Signoguen.

Nounou, village situé dans la partie sud de la zone d'étude est traversé d'ouest en est en passant par le sud, par le barrage de Loumbila. Dans la partie nord de ce village se trouvent des mares temporaires tandis que le sud est parsemé d'une multitude de puits de taille variable, à faibles profondeurs, qui retiennent l'eau nécessaire aux cultures maraîchères.

Watinoma est situé dans la partie nord de la zone d'étude ; c'est un village dans lequel il n'y a ni mare ni barrage. Les gîtes potentiels pour le développement des moustiques dans ce village sont constitués essentiellement par les fossés longeant la voie ferrée qui traverse ce village pour relier Kaya à Ouagadougou.

Signoguen, village situé près d'un bas-fond à l'ouest de la zone d'étude est entouré d'ouest en est via le nord d'une mare temporaire qui se remplit dès les premières pluies ; un grand fossé dans la partie nord de ce village constitue en saison pluvieuse une importante retenue d'eau aux abords de laquelle le développement de moustiques est possible.

Somnaway se trouve au centre de la zone d'étude. Dans la partie ouest de ce village se trouve un barrage avec l'eau duquel se pratique une importante riziculture. En plus de ces rizières qui sont des gîtes importants de développement de moustiques, il y a également à l'est un important gîte temporaire constitué par un petit cours d'eau.

Depuis 1995, une évaluation ponctuelle (enquête transversale) des différents paramètres parasitologiques et entomologiques de la transmission du paludisme s'effectue chaque mois de septembre dans un plus grand nombre de villages.

### 3.2.2 Type d'étude

Enquête longitudinale dans 4 villages sentinelle, pour étudier la dynamique de la transmission et le comportement de piqûre des moustiques.

Enquête transversale dans au moins 48 villages, pour étudier la distribution des espèces, les niveaux de transmission du paludisme, l'influence de la position des villages sur l'agressivité et l'indice sporozoïtique de *An. gambiae s.l.*, l'anthropophilie de ce vecteur, la composition spécifique du complexe *An. gambiae s.l.*.

Enquête transversale pour l'étude de l'efficacité et de la durée d'efficacité de la perméthrine (rémanence) sur les rideaux imprégnés.

### 3.2.3 Paramètres étudiés et méthode d'échantillonnage

Tous les moustiques capturés étaient classés par enquête et par village et gardés au laboratoire, dans des tubes contenant du silicagel. Deux méthodes de capture des moustiques ont été utilisées pour mesurer les paramètres suivants :

- la dynamique des populations vectorielles ou suivi de l'évolution des populations de vecteurs : c'est un paramètre qui se rapporte à l'étude des densités mensuelles des populations vectorielles au cours du temps en l'absence de RII ; il donne une idée sur les variations temporelles de l'abondance des vecteurs. Cette étude se déroulait dans les 2 villages sentinelle n'ayant pas reçu les RII en 1994. Elle se réalisait par la capture nocturne de tous les moustiques à l'intérieur et à l'extérieur des cases de ces deux villages, à l'aide de pièges lumineux CDC. Ces captures duraient toute l'année.

Pour l'étude de la dynamique des populations vectorielles, la totalité des femelles de *An. gambiae s. l.* et *An. funestus s.l.* capturées à l'intérieur et à l'extérieur des cases des deux villages était prise en compte d'août 1993 à avril 1996, juste avant leur couverture par les RII.

- Les paramètres de la transmission : il s'agit de l'agressivité, de l'indice sporozoïtique, du taux d'inoculation entomologique, de la dynamique de la transmission.

- ✓ L'agressivité : l'agressivité due à un vecteur indique le nombre de piqûres infligées à un homme par ce vecteur dans un temps donné. Elle nous donne une idée de la nuisance (gêne) causée par une ou plusieurs espèces de moustiques sur les communautés humaines concernées par l'étude.

Les moustiques utilisés pour cette étude étaient capturés à l'aide de pièges lumineux CDC à l'intérieur et à l'extérieur des cases des 4 villages sentinelle de juillet à novembre chaque année depuis 1994 jusqu'à 1999 et d'août à novembre 1993. La comparaison des agressivités dans les cases avec et sans RII a été effectuée du 16 août au 30 novembre chaque année. Les moustiques provenaient aussi des captures réalisées chaque mois de septembre depuis 1995, à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases d'au moins 32 villages, puis, après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases d'au moins 56 villages.

Pour le calcul de l'agressivité (piqûres/homme/temps), le nombre total des femelles de *An. gambiae s.l.* était pris en compte lors des captures à l'aide des pièges lumineux CDC. Dans les captures matinales après pulvérisation d'un insecticide, seules les femelles d'*An. gambiae s.l.* gorgées de sang humain étaient considérées. Tout comme les captures nocturnes sur homme dans lesquelles le bon captureur est celui qui prend tous les moustiques qui se posent sur lui avant qu'ils ne le piquent, le piège lumineux CDC prend les moustiques incapables d'accéder à l'appât protégé par la moustiquaire. En effet, *An. gambiae s.l.* femelle capturée avec un piège lumineux CDC est considérée comme venant dans l'intention de piquer le dormeur sous la moustiquaire mais capturée avant d'avoir pu prendre son repas sanguin. C'est donc une femelle agressive même si elle n'est pas gorgée de sang. Par contre, après une pulvérisation d'un insecticide entre 6h et 7h, nous récoltons des femelles qui ont pris un repas sanguin la nuit précédente, donc ayant été réellement agressives pour les dormeurs.

✓ L'indice sporozoïtique : c'est la proportion de moustiques femelles infectées par *Plasmodium falciparum*, le parasite du paludisme. Il se mesure grâce à un test immuno-enzymatique "ELISA".

Les moustiques étaient capturés à l'aide de pièges lumineux CDC, à l'intérieur et à l'extérieur des cases des 4 villages sentinelle lors du suivi longitudinal mis en place pour l'étude de l'agressivité. Une valeur de l'indice sporozoïtique était calculée pour chaque village du 16 août au 30 novembre chaque année. Les moustiques provenaient aussi des captures réalisées chaque mois de septembre depuis 1995, à l'aide de pièges lumineux à l'extérieur des cases d'au moins 32 villages, puis, après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases d'au moins 56 villages. L'indice sporozoïtique dans ce cas était calculé dans la zone avec RII et dans la zone sans RII pour le mois de septembre correspondant au mois de transmission maximale au Burkina Faso.

Pour la détermination de l'indice sporozoïtique, les thorax des *An. gambiae s.l.* femelles capturées à l'aide des pièges lumineux CDC dans les villages sentinelle lors des différentes enquêtes longitudinales étaient testés par ELISA, indépendamment de leur état de réplétion. Ainsi, dans chaque village sentinelle, lorsque c'était possible, les thorax de 616 femelles (7 plaques de 88 puits) étaient testés. Le total de toutes les femelles capturées dans le mois étant connu, les 616 femelles représentent une proportion bien donnée de ce total ; cette proportion était appliquée au total de chaque capture pour avoir le total de femelles à tester par capture. Si le nombre de moustiques capturés était inférieur à 616, les thorax de toutes les femelles étaient testés. Lors des enquêtes transversales, les thorax de toutes les femelles d'*An. gambiae s.l.* capturées à l'aide des pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases de la zone d'intervention étaient testés (leur nombre étant réduit à cause de l'intervention) contre un maximum de thorax de 616 femelles/village dans les villages non encore couverts ou complètement extérieurs à la zone d'étude.

Puisque l'agressivité était calculée à partir des femelles gorgées de sang humain, le pourcentage de moustiques infectés capturés après pulvérisation d'un insecticide était déterminé à partir des thorax des femelles gorgées de sang humain ; le même nombre de femelles que précédemment était testé si possible.

✓ Le taux d'inoculation entomologique (TIE) : il mesure le niveau de transmission du paludisme par une estimation du nombre de piqûres infectées reçues par homme et par unité de temps. Il est le produit de l'agressivité et de l'indice sporozoïtique.

Pour la détermination du TIE, nous nous référons aux mêmes échantillons considérés pour le calcul de l'agressivité et de l'indice sporozoïtique.

✓ La dynamique de la transmission : c'est l'évolution au cours du temps, du taux d'inoculation entomologique. Ce paramètre était évalué à partir des moustiques femelles capturés à l'aide de pièges lumineux CDC dans les 4 villages sentinelle, à l'intérieur et à l'extérieur des cases, entre 19h et 6h du matin. La collecte des moustiques s'est déroulée d'août à novembre 1993 et de juillet à novembre de 1994 à 1999.

▪ L'influence de la position des villages sur les paramètres de la transmission : il s'agit de déterminer l'impact des RII sur l'agressivité et l'indice sporozoïtique selon la position centrale ou périphérique des villages de la zone protégée par les RII afin de déterminer un éventuel « effet de masse », c'est à dire le bénéfice procuré par les RII pour la communauté entière vivant dans des villages où toutes les cases sont protégées par les RII. Pour cette étude, les villages étaient répartis en 3 groupes et les différents paramètres étaient analysés à l'intérieur de ces groupes :

- Le groupe des villages situés au centre de la zone d'intervention, donc, entourés par d'autres villages protégés par les RII dans chaque direction ;

- Celui de ceux situés à la périphérie de la zone intervention, c'est à dire voisins de villages non protégés ;
- Le groupe situé en dehors de la zone intervention à au moins 2 km du village intervention le plus proche.

Les moustiques utilisés étaient capturés à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases, de 1995 à 1999 lors des enquêtes de septembre.

Pour la détermination de l'impact des RII sur les paramètres de la transmission selon la position des villages, toutes les femelles de *An. gambiae s.l.* capturées étaient concernées.

- Les paramètres du comportement de piqure : Il s'agit de l'endophagie ou de l'exophagie de *An. gambiae s.l.*, du rythme d'agressivité des vecteurs, du degré d'anthropophilie de *An. gambiae s.l.*.

- ✓ L'endophagie ou l'exophagie d'un vecteur exprime l'habitude du vecteur à piquer dedans ou dehors. Le comportement de piqure par rapport au lieu où se déroule cette activité de piqure était déterminé par le rapport entre l'agressivité à l'intérieur et celle à l'extérieur des cases.

Les moustiques étaient capturés à l'aide de pièges lumineux CDC, à l'intérieur et à l'extérieur des cases des 4 villages sentinelle lors des enquêtes longitudinales mise en place pour l'étude de l'agressivité. Ces enquêtes se sont déroulées d'août à novembre 1993 et de juillet à novembre chaque année, de 1994 à 1999. Pour la détermination de l'endophagie ou de l'exophagie, le total des *An. gambiae s. l.* femelles capturées de 19h à 6h du matin à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur et à l'intérieur de cases sans RII durant la période mi-août fin novembre était pris en compte.

- ✓ Le rythme d'agressivité : il détermine la période d'intense activité des vecteurs. Il exprime en général l'intensité des agressions vectorielles par tranche horaire. Dans notre

étude, il était estimé selon deux périodes ou « tranches horaires » (de 19h à 22h et de 22h à 6h du matin), avant et après l'installation des RII.

Les moustiques étaient capturés à l'aide de pièges lumineux CDC, à l'intérieur et à l'extérieur des cases des 4 villages sentinelle lors des enquêtes longitudinales. Ces enquêtes se déroulaient d'août à novembre 1993 et de juillet à novembre 1994 à 1999.

Pour la détermination du rythme d'agressivité, le total des *An. gambiae s. l.* femelles capturées par période/tranche horaire à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur et à l'intérieur de cases sans RII durant la période mi-août fin novembre était pris en compte.

✓ L'indice d'anthropophilie : c'est la proportion de moustiques femelles gorgées de sang humain. Il se mesure grâce à un test immuno-enzymatique "ELISA". Les moustiques femelles étaient capturés après pulvérisation d'un insecticide dans au moins 56 villages chaque mois de septembre, de 1995 à 1999.

Pour la détermination de l'indice d'anthropophilie, les abdomens des femelles gorgées dont les thorax étaient utilisés pour déterminer l'indice sporozoïtique étaient pris en compte. Lorsque c'était possible, 616 femelles choisies proportionnellement au total de chaque capture étaient testés pour le mois.

▪ La distribution spatiale des différents genres et espèces. Elle concerne la distribution spécifique des moustiques dans la zone d'étude avant et après l'installation des RII.

Les moustiques entrant en compte dans cette étude étaient capturés dans au moins 24 villages à l'aide de pièges lumineux CDC placés à l'extérieur des cases et dans au moins 48 villages, après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases. Cette étude se déroulait chaque année depuis 1995, durant tout le mois de septembre.

Pour la détermination de la distribution spatiale des différents genres et espèces, la totalité des moustiques femelles capturés était prise en compte.

- La distribution de *An. gambiae s.l.* selon l'état de réplétion des femelles : elle mesure la fréquence des différents états physiologiques de ce vecteur avant et après l'installation des RII.

Les moustiques entrant en compte dans cette étude étaient capturés après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases d'au moins 56 villages. Les enquêtes se déroulaient chaque année durant tout le mois de septembre, depuis 1995.

Pour la détermination de la distribution de *An. gambiae s.l.* selon l'état de réplétion des femelles, toutes les femelles capturées étaient prises en compte.

- La distribution spécifique des moustiques du complexe *An. gambiae s.l.* : cette étude permet d'identifier les espèces du complexe présentes dans la zone et de déterminer leur fréquence en présence et en l'absence de RII. Les moustiques utilisés pour cette étude provenaient de 9 villages situés au cœur de la zone d'intervention et 8 villages situés hors de la zone protégée par les RII. Ils étaient capturés à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases et après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur, lors des enquêtes transversales réalisées en septembre 1998 et 1999. Les tests de laboratoire étaient réalisés sur les têtes des *An. gambiae s.l.* femelles dont les thorax étaient utilisés pour la détermination de l'indice sporozoïtique. Au total, 611 femelles capturées après pulvérisation d'un insecticide dans les cases et 518 à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases étaient testées.

- L'efficacité des RII et la durée de l'efficacité de l'insecticide sur les rideaux (rémanence). Elles estiment la puissance des RII à tuer les moustiques qui s'y posaient et le temps pendant lequel ce matériel restait efficace. Ces paramètres se mesurent par les bio-essais. L'étude était réalisée deux fois par an depuis 1994 jusqu'en 1999 dans les villages protégés.

Les moustiques utilisés étaient *An. gambiae s.l.* femelles gorgées, capturées vivants à l'aide d'aspirateurs à l'intérieur des cases de villages non protégés. Un minimum de 500 femelles étaient soumis au test dans chacun des villages concernés par cette étude.

Le tableau 1 présente un récapitulatif de l'échantillonnage.

**Tableau 1** : Récapitulatif de l'échantillonnage

	Matériel animal	Type d'enquête (Période)	Type de capture	Type d'essai ou calcul
Dynamique des populations	<i>An. gambiae s.l.</i> <i>An. funestus s.l.</i>	EL (août 93–avril 96)	CDC	Evolution des densités dans le temps
Agressivité	<i>An. gambiae s.l.</i>	EL (juillet/novembre) et ET (septembre)	CDC et CP	Nombre de vecteurs/homme/période
Indice sporozoïtique	Thorax <i>An. gambiae s.l.</i>	EL (juillet/novembre) et ET (septembre)	CDC et CP	ELISA
Taux d'inoculation entomologique	<i>An. gambiae s.l.</i>	EL (juillet/novembre) et ET (septembre)	CDC et CP	Agressivité x taux sporozoïtique
Dynamique de la transmission	<i>An. gambiae s.l.</i>	EL (juillet/novembre)	CDC	Calcul du TIE
“ effet de masse ”	<i>An. gambiae s.l.</i>	ET (Septembre)	CDC	Comparaison centre/périphérie/Hors zone
Comportement de piqure	<i>An. gambiae s.l.</i>	EL (juillet/novembre)	CDC	Comparaison intérieur/extérieur-tôt/tard
Indice d'anthropophilie	Abdomens, <i>An. gambiae s.l.</i>	ET (septembre)	CP	ELISA
Distribution spatiale des différentes espèces	Tout moustique rencontré	ET (septembre)	CDC et CP	Pourcentage de chaque espèce
Distribution de <i>An. gambiae s.l.</i> selon l'état de réplétion	<i>An. gambiae s.l.</i>	ET (septembre)	CP	Pourcentage de chaque état de réplétion
Distribution spécifique	Têtes, <i>An. gambiae s.l.</i>	ET (septembre)	CDC et CP	PCR
Rémanence de l'insecticide	<i>An. gambiae s.l.</i>	ET (octobre et Février)	CM	Bio-essais

NB : EL = Enquête longitudinale (de 1993 à 1999), ET = Enquête transversale (de 1995 à 1999), CDC = Piège lumineux, CP = Capture après pulvérisation d'un insecticide à base de pyréthre

### 3.2.4 Période d'étude

La période d'étude était de juillet 1993 à novembre 1999.

### 3.2.5 Déroulement des activités

#### 3.2.5.1 *Sur le terrain*

- *Surveillance entomologique longitudinale dans 4 villages sentinelle.*

Une surveillance entomologique intensive était instaurée dans 4 villages sentinelle depuis juillet 1993 jusqu'à la fin de nos investigations. Les données de base étaient collectées de juillet 1993 à juin 1994. En juillet 1994, la moitié de la zone d'étude, dont deux des villages sentinelle (Somnaway et Signoguen), était couverte par les RII. Les deux autres villages sentinelle (Noungou et Watinoma), situés dans la zone sans RII servaient de contrôle, et recevaient à leur tour les RII en juillet 1996.

Dans chaque village sentinelle, 6 concessions étaient choisies pour servir de lieu de capture de moustiques, à l'aide de pièges lumineux CDC. Dans chacune de ces concessions, 2 positions de capture étaient identifiées, l'une à l'intérieur des cases et l'autre à l'extérieur. Lorsque les villages recevaient les RII, les cases dans lesquelles avaient lieu les captures restaient sans RII et nous prenions soin de doter chaque dormeur d'une moustiquaire non imprégnée d'un insecticide ; cela nous permettait de poursuivre nos captures dans les positions initialement choisies et d'avoir une idée de ce qui se passait si quelqu'un n'utilisait pas ou utilisait incorrectement les RII. Une troisième position était identifiée dans une autre des six concessions, à l'intérieur d'une case avec RII ce qui permettait d'estimer l'agressivité sous protection. Six soirs par semaine, dans chacun des 4 villages sentinelle, deux agents villageois formés par le CNRFP à la capture et au triage des moustiques fixaient dans deux des concessions choisies (intérieur sans RII et extérieur dans une concession, intérieur avec

RII dans une autre), trois pièges lumineux et changeaient de concession le jour suivant, de façon à faire le tour des 6 concessions.

Les pièges étaient placés à côté d'un volontaire villageois dormant sous une moustiquaire non imprégnée, la lampe incandescente à environ 50cm au-dessus du dormeur. Les pièges fonctionnaient de 19h à 6h du matin. Les moustiques étaient collectés dans un premier sac de 19h à 22h et dans un deuxième sac de 22h à 6h. A la fin de la capture, les moustiques étaient retirés des sacs grâce à des aspirateurs, tués à l'aide de chloroforme, identifiés morphologiquement et dénombrés et les résultats reportés sur des fiches (Annexe I). Les femelles du genre *Anopheles* étaient conservées dans des tubes contenant du silicagel pour de futures analyses. La supervision des villages se faisait tous les 4 jours par un agent du CNRFP. L'objectif de cette supervision était de vérifier que l'identification spécifique et le dénombrement des moustiques étaient bien faits et que les fiches de capture étaient correctement remplies, de remplacer les batteries déchargées et de ramener les échantillons collectés au laboratoire.

- *Enquête transversale dans la grande zone d'étude*

Des enquêtes transversales étaient conduites, depuis 1995, dans des villages de la zone d'étude en septembre chaque année. Le mois de septembre était choisi parce qu'il correspond à la période de transmission maximale du paludisme dans notre région.

En 1995, près de la moitié des villages de la zone d'étude était impliquée dans l'enquête (40 intervention, 44 contrôle). De 1996 à 1999, 48 villages étaient inclus dans l'enquête (24 villages ayant reçu les RII en 1994 et 24 les ayant reçu en 1996) plus les 8 villages identifiés en dehors de la zone couverte.

Au cours de ces enquêtes, deux méthodes de capture des moustiques étaient pratiquées : la capture après pulvérisation d'un insecticide et celle à l'aide de pièges

lumineux. Les captures après pulvérisation d'un insecticide étaient réalisées, par des agents formés par le CNRFP (8 équipes de 2 personnes), dans tous les villages concernés par l'enquête, entre 6h et 7h du matin. La capture était réalisée dans chaque village pendant 3 jours consécutifs dans des cases choisies au hasard. En 1995 et 1996, le nombre de cases était de 3 par jour, soit 9 captures au total par village. A partir de 1997, le nombre de cases était augmentée à 4 /jour. Pour réaliser ce type de capture, des tissus de grande taille et de couleur blanche étaient étalés dans chacune des cases choisies puis, après avoir pris soin de fermer toutes les ouvertures, la chambre était pulvérisée à l'aide d'un insecticide à base de pyrèthre. Une attente de 10 min était nécessaire, après lesquelles, les moustiques étaient récupérés à l'aide de pinces entomologiques, transférés dans des boîtes de Pétri puis séparés par espèce, sexe et stade de réplétion et conditionnés dans des tubes contenant du silica-gel pour de futures analyses. Le nombre de personnes ayant dormi dans la case la nuit précédant la capture était également mentionné pour permettre de calculer le taux d'agressivité dû à chaque espèce de moustiques par personne et par unité de temps (Annexe II).

Les échantillonnages à l'aide de pièges lumineux étaient effectués à partir de 1995 à l'extérieur des habitations dans 24 villages ayant reçu les RII en 1994 ; à partir de 1996, en plus des 24 villages de l'année précédente, les 8 villages hors zone étaient également concernés par ces captures. Par village, 3 pièges étaient fixés par nuit pendant 3 nuits consécutives, soit 9 captures par village, par un des agents des villages sentinelle (pendant l'enquête transversale, 1 seul agent assurait le travail dans le village sentinelle, alors que son collègue sillonnait la zone). Au total, 4 agents se déplaçaient de village en village pendant chaque mois de septembre.

Des bio-essais conduits deux fois par an permettaient d'évaluer l'efficacité des rideaux imprégnés de perméthrine à tuer les moustiques, selon le protocole standard de l'Organisation

Mondiale de la Santé (OMS, 1989). Environ 5000 *An. gambiae s.l.* fraîchement gorgés, capturés tôt le matin à l'aide d'aspirateurs à l'intérieur des cases de villages situés en dehors de la zone d'étude, c'est à dire sans RII, étaient exposés pendant trois minutes à 30 rideaux imprégnés (15 de la zone intervention et 15 de l'ancienne zone contrôle) et 20 rideaux contrôle (10 pour le contrôle positif = rideaux nouvellement imprégnés et 10 pour le contrôle négatif = rideaux non imprégnés).

Le Tableau 2 présente un récapitulatif du déroulement des activités sur le terrain.

**Tableau 2** : Récapitulatif du déroulement des activités

	RII	Enquête longitudinale		Enquête transversale		
		CDC	Lieux de capture	CP/CDC	CDC Nb. capt. par vill.	CP Nb. capt. par vill.
1993	Néant	Oui 4 VS	Int. -RII Ext.	Non		
1994	80 villages	Oui 4 VS	Int. -RII, Int. +RII, Ext.	Non		
1995	80 villages	Oui 4 VS	Idem	Oui 40i+44c	9	9
1996	158 villages	Oui 4 VS	Idem	Oui 48i+8hz	9	9
1997 à 1999	158 villages	Oui 4VS	Idem	Oui 48i+8hz	9	12

NB : EL= enquête longitudinale, ET= enquête transversale, VS= village sentinelle, Int = intérieur, Ext = extérieur, i = intervention, c = contrôle, hz =hors zone, RII = rideaux imprégnés d'insecticide, CDC = Piège lumineux, CP = Capture après pulvérisation d'un insecticide à base de pyrèthre

### 3.2.5.2 Au laboratoire

#### ▪ Tests ELISA

La détermination du taux d'infection des anophèles femelles par *P. falciparum* (indice sporozoïtique) de même que la proportion de repas sanguins pris sur homme (indice d'anthropophilie) étaient réalisées par des tests immuno-enzymatiques ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

Pour l'indice sporozoïtique, la présence de l'antigène circomsporozoïtique (CS) de *P. falciparum* était recherchée selon le protocole décrit par Zavala et coll. (1982) et modifié par Burkot et coll. (1984). Les détails de ce protocole sont donnés dans l'annexe III. Cette technique avait l'avantage de pouvoir être utilisée sur des moustiques séchés, d'être réalisable sur un grand nombre d'échantillons à la fois, et de déterminer l'espèce plasmodiale. Elle avait seulement le désavantage de ne pas être quantitative (figure 8). Au contraire, la dissection des glandes salivaires, qui se faisait obligatoirement sur des moustiques frais demandait beaucoup de temps et ne permettait pas d'identifier l'espèce, quand bien même il permettait de quantifier les sporozoïtes.

La détermination de l'origine des repas sanguins se faisait selon la méthode directe ELISA mise au point par Habluetzel et coll. (1989). Elle était réalisée sur des moustiques bien gorgés qui pouvaient même être secs (figure 9). Les détails du protocole utilisé sont donnés en annexe IV.

Les préparations des réactifs pour ces deux tests sont présentés dans l'annexe V.

- *Réaction de polymérisation en chaîne " Polymerase Chain Reaction " (PCR)*

Une étude bio-moléculaire était entreprise pour identifier les 2 espèces du complexe *An. gambiae s.l.* en présence dans le centre de la zone d'étude et soumises à la pression de l'insecticide, comparativement à celles présentes en dehors de cette zone, sans RII. La technique utilisée pour cette identification était basée sur l'utilisation de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) mise au point par Mullis de l'équipe de Erlich (Cetus Corporation) en 1985 (Kaplan et delpech, 1993) et appliquée pour l'identification des espèces du complexe *An. gambiae s.l.* par Paskewitz et coll. (1990) et Scott et coll. (1993). Pour amplifier un fragment d'ADN, il faut d'abord l'extraire. L'extraction de l'ADN des moustiques



Revêtement de la plaque avec l'anticorps monoclonal 2A10



Saturation, avec le lait, des sites de réaction qui restent sur la plaque



Liaison de l'antigène sporozoïtique à l'anticorps monoclonal 2A10



Mise en évidence de l'antigène sporozoïtique avec l'anticorps monoclonal 2A10 marqué  
 Mesure semi-quantitative de la react immunologique au spectrophotomètre ou au révélateur d'émission gamma.

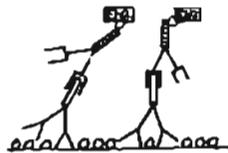
**Figure 8** : Principe de la réaction de recherche de l'antigène sporozoïtique de *Plasmodium falciparum* chez le moustique



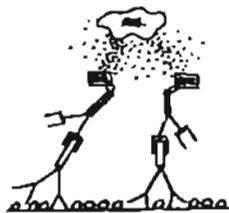
- Revêtement de la plaque avec l'extraction du repas sanguin ( immunoglobulines d'origine humaine ou animale)



- Saturation, avec le lait, des sites de réaction qui restent sur la plaques.



- Mise en évidence des immunoglobulines humaines avec de l'antiserum contre les immunoglobulines humaines, marqué à la peroxydase



- Visualisation et mesure semi-quantitative de la réaction immunologique avec le substrat ( OPD).

**Figure 9** : Principe de la réaction de l'identification du repas sanguin de moustiques

était faite selon le protocole présenté dans l'annexe VI. Une fois que l'ADN était extrait, son amplification était réalisée grâce à la réaction PCR dont le protocole est également présenté dans l'annexe VI. Cette réaction consiste à promouvoir la réplication cyclique d'une région d'ADN grâce à trois amorces différentes : une amorce universelle UN dérivée d'une région conservée de l'extrémité 3' de la région codant pour le " rDNA " de la région 28S et deux amorces spécifiques de l'espèce AR et GA dérivées de séquences dans l'espace intergénique ; les séquences des amorces sont données à la fin de l'annexe VI. Cette méthode d'amplification de l'ADN est très spécifique pour *An. gambiae s. s.* et *An. arabiensis*. La réaction s'effectue en 3 phases qui se répètent de façon cyclique 20 à 30 fois :

- ✓ la dénaturation de l'ADN,
- ✓ la fixation des amorces,
- ✓ l'élongation des amorces grâce à la polymérase.

L'identification de l'ADN est réalisée après sa migration par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% (Annexe VI).

La concentration des amorces, des ADN matrices et celle des autres réactifs comme le chlorure de magnésium MgCl<sub>2</sub>, le nombre d'unités d'ADN polymérase nécessaire ont été examinés et évalués dans un programme standard de réaction incluant 30 cycles de chacune des phases de la réaction PCR pour obtenir des résultats clairs avec un minimum de réactifs (Scott *et al.*, 1993). La description des 3 étapes (extraction de l'ADN, PCR, électrophorèse) est donnée dans l'annexe VI et la préparation des réactifs est détaillée dans l'annexe V.

Les formes chromosomiques (unités taxonomiques) de *An. gambiae s.s.* étaient identifiées selon la technique mise au point par Favia et coll. (2001).

### 3.2.6 Ethique

Le protocole d'étude avait reçu l'approbation du Ministère de la Santé du Burkina Faso qui, à cet effet, avait délivré un certificat d'éthique en 1992 et en 1996. Ces certificats étaient remis aux différents bailleurs de fonds (OMS/TDR, Union Européenne, Coopération Italienne et DANIDA). Le projet était ensuite présenté aux autorités provinciales. Après avoir obtenu leur accord pour abriter l'étude dans leur province, des rencontres furent organisées par le CNRFP (ex-CNLP) et les autorités provinciales dans les villages concernés, afin d'expliquer aux chefs des villages et à toute la population les objectifs de l'étude que nous souhaitons mener, de même que la nécessité de leur implication directe pour la bonne marche des activités futures.

Après avoir reçu leur consentement oral, les activités démarrèrent. Les rideaux imprégnés furent alors installés en juin/juillet 1994 dans les secteurs intervention et en juin/juillet 1996 dans les secteurs contrôle, à la fin de la première phase d'étude.

### 3.2.7 Plan d'analyse des données

- La dynamique des populations vectorielles.

Dans chacun des deux villages sentinelle non protégés par les RII en 1994, la densité vectorielle par mois et par case était calculée à partir de la moyenne géométrique du nombre de femelles d'*An. gambiae s.l.* capturées par nuit et par case multipliée par le nombre de nuits dans le mois.

- Les paramètres de la transmission.

Les paramètres de la transmission étaient analysés par village lors du suivi longitudinal dans les 4 villages sentinelle. Au cours de l'enquête transversale, l'analyse des agressivités, des taux sporozoïtiques et des TIE était réalisée par secteur (8 secteurs avec RII depuis 1994, 8 secteurs avec RII depuis 1996 et 1 secteur représentant les villages hors

zones), en utilisant le logiciel STATA (StataCorp. 1995, release 4.0, College Station TX, USA).

✓ L'agressivité : pour déterminer le nombre de piqûres d'*An. gambiae s.l.* reçues par homme et par nuit (taux d'agressivité), toutes les femelles d'*An. gambiae s.l.* capturées à l'aide de pièges lumineux étaient considérées ; par contre, lors des captures après pulvérisation d'un insecticide, seules les femelles gorgées de sang humain étaient prises en compte, pour les mêmes raisons déjà évoquées dans le paragraphe 3.2.3.

Dans les 4 villages sentinelle, les agressivités mensuelles d'*An. gambiae s.l.* étaient calculées à partir de la moyenne géométrique du nombre de femelles d'*An. gambiae s.l.* capturées par nuit et par piège, multipliée par le nombre de jours dans le mois. Les agressivités vectorielles cumulatives pour la période du 16 août au 30 novembre étaient obtenues en faisant la somme des agressivités mensuelles. Les agressivités (nombre de piqûres reçues par homme et par unité de temps) correspondaient ici aux densités vectorielles. En effet, il y avait toujours un seul appât sous moustiquaire lors des captures à l'aide des pièges lumineux (dénominateur = 1). Ainsi, le total de femelles capturées par piège (densité) correspond au nombre de femelles qui auraient dû piquer le dormeur protégé par la moustiquaire pendant le temps de capture, donc équivaut à l'agressivité due à ces femelles.

Au cours de l'enquête transversale, pour chaque capture après pulvérisation d'un insecticide entre 6h et 7h du matin, on divisait le nombre total d'*An. gambiae s.l.* femelles gorgées par le nombre de personnes ayant dormi dans les cases la nuit précédant la capture. L'agressivité était alors déterminée par village comme la moyenne géométrique des femelles *An. gambiae s.l.* gorgées par personne. Pour chaque capture à l'aide d'un piège lumineux CDC, l'agressivité par village était calculée à partir de la moyenne géométrique des *An. gambiae s.l.* femelles capturées auprès d'une personne dormant sous une moustiquaire non traitée.

L'agressivité était présentée pour chaque type de capture (piège lumineux CDC et pulvérisation d'un insecticide) par zone, (zone avec RII depuis 1994, zone avec RII depuis 1996, zone sans RII) en tenant compte de la subdivision de chaque zone intervention en 8 secteurs et la zone contrôle en un seul secteur ; la zone contrôle était constituée par les 8 village hors zone. Le secteur est une subdivision de la zone d'étude regroupant une dizaine de villages.

✓ L'indice sporozoïtique (IS) :

Dans les villages sentinelle, l'indice sporozoïtique mensuel était calculé en divisant le nombre de moustiques infectés par le nombre de moustiques testés. Un indice sporozoïtique était calculé pour les moustiques capturés à l'intérieur des cases et un autre pour ceux capturés à l'extérieur des cases. L'indice sporozoïtique mensuel pour le village était obtenu en faisant une moyenne pesée des deux indices sporozoïtiques précédents, en tenant compte du nombre de moustiques capturés à l'intérieur et à l'extérieur des cases. L'indice sporozoïtique pour la période du 16 août au 30 novembre était calculé en sommant les indices sporozoïtiques mensuels précédents et en les divisant par le nombre total de moustiques capturés.

Au cours de l'enquête transversale, l'indice sporozoïtique par village était calculé seulement pour les villages où le nombre de moustiques testés pour déterminer la présence de la protéine circomsporozoïtique de *P. falciparum* était supérieur à 5. L'indice sporozoïtique par secteur était obtenu en divisant le nombre total de moustiques positifs à *P. falciparum* trouvé dans les villages du secteur, par le nombre de moustiques testés dans ces villages. Les résultats pour les trois zones (zone avec RII depuis 1994, zone avec RII depuis 1996, zone sans RII) étaient basés sur une analyse tenant compte de la subdivision de chaque zone intervention en 8 secteurs et la zone contrôle en 1 seul secteur, chaque secteur ayant le même poids.

- ✓ Les taux d'inoculation entomologique (TIE) :

Dans les villages sentinelle, les TIE mensuels étaient obtenus en faisant le produit de l'agressivité et de l'indice sporozoïtique mensuels. Le TIE était calculé de mi-août à fin novembre en multipliant l'IS de la période par le taux d'agressivité de la même période.

Au cours de l'enquête transversale, le TIE par nuit pour chaque secteur était calculé en multipliant la moyenne géométrique du nombre de femelles gorgées par personne dormant dans une case du secteur (agressivité) par le taux sporozoïtique correspondant. Les résultats sont présentés comme précédemment décrits pour l'agressivité et l'indice sporozoïtique, par zone.

- L'analyse de l'agressivité et de l'indice sporozoïtique selon la position des villages au centre, à la périphérie ou en dehors de la zone protégée par les RII était réalisée à l'intérieur de chaque groupe de villages (groupe central, périphérique et extérieur) en utilisant une régression logistique linéaire.

- Les paramètres du comportement de piqûre.

- ✓ L'endophagie ou l'exophagie était analysée en calculant les intervalles de confiance à 95%.

- ✓ La comparaison du rythme d'agressivité des vecteurs dans la zone couverte par les RII et dans les villages hors zone était réalisée en utilisant le test du chi carré.

- ✓ L'indice d'anthropophilie, obtenu à partir des femelles gorgées au repos dans les cases lors des enquêtes transversales était calculé dans la zone intervention et dans les villages hors zone, en divisant le nombre de moustiques gorgés de sang humain par le nombre de moustiques testés. L'analyse comparative des zones était effectuée en utilisant le test du chi carré.

- La distribution spatiale des différents genres et espèces de moustiques de même que la fréquence des différents états de réplétion de *An. gambiae s.l.* étaient exprimés en fonction du pourcentage représentatif de chaque espèce ou état. La comparaison entre les zones était obtenue en utilisant le t test.

- La proportion des espèces et des formes chromosomiques du complexe *An. gambiae s.l.* de même que la détermination du degré d'infection ou d'anthropophilie de chaque espèce étaient calculés en faisant le rapport entre le nombre de positifs pour le critère et le nombre total testé. La comparaison entre les différentes valeurs était effectuée en utilisant le test du chi carré.

- L'efficacité et la durée d'efficacité de l'insecticide sur les RII étaient calculées en appliquant une correction des mortalités obtenues lors des tests par celles des contrôles selon la formule suivante : Mortalité corrigée =  $1 - (1 - \text{mortalité du test}) / (1 - \text{mortalité du contrôle})$ .

## **4. RESULTATS**

## 4.1 Résultats Globaux

### 4.1.1 Enquêtes longitudinales

D'août 1993 à avril 1996, la dynamique de la population vectorielle était estimée à l'intérieur des cases sans RII à partir de 14 264 femelles d'*An. gambiae s.l.* et 7 721 *An. funestus s.l.*. A l'extérieur des cases, c'était 4 326 *An. gambiae s.l.* et 2 748 *An. funestus s.l.* qui ont servi pour cette estimation (tableau 3).

L'agressivité due à *An. gambiae s.l.* était estimée de mi-août à fin novembre chaque année de 1993 à 1999 à partir de 44 690 femelles capturées à l'intérieur des cases sans RII, 1 698 à l'intérieur des cases protégées par les RII, et 19 771 femelles capturées à l'extérieur des cases.

La détermination de l'infection de *An. gambiae s.l.* à *P. falciparum* était réalisée sur 31 856 femelles capturées à l'extérieur et à l'intérieur des cases non protégées au cours de la période d'étude.

L'endophagie et l'exophagie étaient déterminées sur 64 461 *An. gambiae s.l.* capturées à l'intérieur des cases sans RII et à l'extérieur.

Le rythme d'agressivité des vecteurs était déterminé à partir de 64 461 *An. gambiae s.l.* et 10 263 *An. funestus s.l.*

### 4.1.2 Enquêtes transversales

Au cours des enquêtes transversales de 1995 à 1999, nous avons capturé après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases 31 606 *An. gambiae s.l.*, dont 4 213 dans les villages protégés par les RII, et 1 984 *An. funestus s.l.* dont 94 dans les villages sous protection. A l'extérieur des cases, les captures à l'aide de pièges lumineux CDC donnaient

les densités de 9 466 *An. gambiae s.l.* dont 4 166 dans les villages protégés et 400 *An. funestus s.l.* dont 160 provenaient des villages avec RII (tableau 3).

De ces moustiques capturés, 18 965 *An. gambiae s.l.* capturés à l'intérieur des cases et 7 868 capturés à l'extérieur étaient testés pour déterminer l'infection à *P. falciparum*.

L'agressivité due à *An. gambiae s.l.* était calculé à partir des 31 606 femelles capturées à l'intérieur des cases et 9 466 à l'extérieur.

L'origine des repas sanguins était identifiée à partir de 10 835 femelles gorgées de *An. gambiae s.l.* parmi lesquelles 8 253 provenaient de la zone non protégée.

La distribution spatiale des espèces de moustiques rencontrés dans la zone d'étude et en dehors de cette zone était estimée à partir de 31 606 *An. gambiae s.l.*, 1 984 *An. funestus s.l.*, 505 autres moustiques du genre *Anopheles* et 1 063 moustiques appartenant aux autres genres capturés à l'intérieur des cases. A l'extérieur des cases de ces zones c'était 9466 *An. gambiae s.l.*, 400 *An. funestus s.l.*, 753 autres moustiques du genre *Anopheles* et 5 167 moustiques appartenant aux autres genres qui ont été utilisés. Les 31 606 femelles de *An. gambiae s.l.* ont également servi à l'étude de la distribution de l'espèce selon son état de réplétion.

En 1998, 228 *An. gambiae s.l.* femelles, capturées après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases de 9 villages situés au cœur de la zone d'étude et des 8 villages hors zone étaient testés pour l'identification des espèces du complexe *An. gambiae s.l.* en présence dans ces villages. A l'extérieur des cases de ces villages, c'était 72 femelles d'*An. gambiae s.l.* capturées à l'aide de pièges lumineux CDC qui étaient testées.

En 1999, 383 *An. gambiae s.l.* femelles capturées après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases de ces mêmes villages étaient testés contre 446 femelles d'*An. gambiae s.l.* capturées à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases.

Les moustiques identifiés comme *An. gambiae s.s.* (448) étaient également testés pour la détermination des différentes formes chromosomiques.

Au moins 5 000 moustiques étaient soumis au test d'efficacité des RII et de rémanence de l'insecticide sur les rideaux chaque année d'octobre 1994 à février 1996 lorsque la moitié de la zone était couverte, et, à partir de la couverture totale en juin/juillet 1996, au moins 10000 moustiques étaient soumis au test chaque année.

Le tableau 3 reprend tous les résultats globaux, en fonction de l'étude.

**Tableau 3:** Nombre de moustiques capturés ou testés en fonction de l'étude

Type d'enquête	Méthode de capture	Lieu	Période	Position/ Intervention	Nb de moustiques capturés ou testés
<b>Dynamique de la population vectorielle</b>					
Enquête longitudinale	Pièges lumineux CDC	2 villages sentinelle	août 1993 à avril 96	Intérieur sans RII	14 264 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
				Extérieur	7 721 <i>An. funestus s.l.</i> femelles 4 326 <i>An gambiae s.l.</i> femelles 2 748 <i>An. funestus s.l.</i> femelles
<b>Mesure de l'agressivité de <i>An. gambiae s.l.</i></b>					
Enquête longitudinale	Pièges lumineux CDC	4 villages sentinelle	mi août/fin novembre de 1993 à 1999	Intérieur sans RII	44 690 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
				Intérieur avec RII	1 698 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
				Extérieur	19 771 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyrèthrineoïde	84 villages 56 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Intérieur avec RII et sans RII	31 606 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
Enquête transversale	Pièges lumineux CDC	78 villages 32 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Extérieur	9 466 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
<b>Mesure de l'indice sporozoïtique de <i>An. gambiae s.l.</i></b>					
Enquête longitudinale	Pièges lumineux CDC	4 villages sentinelle	mi août/fin novembre de 1993 à 1999	Intérieur sans RII	31 856 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
				et extérieur	
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyrèthrineoïde	84 villages 56 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Intérieur avec RII et sans RII	18 965 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
Enquête transversale	Pièges lumineux CDC	78 villages 32 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Extérieur	7 868 <i>An gambiae s.l.</i> femelles

Type d'enquête	méthode de Capture	Lieu	Période	Position/ Intervention	Nb de moustiques capturés ou testés
<b>Anthropophilie de <i>An. gambiae s.l.</i></b>					
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyréthrianoïde	84 villages 56 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Intérieur avec RII <b>Intérieur</b> sans RII	10 835 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
<b>Endophagie/exophagie de <i>An. gambiae s.l.</i></b>					
Enquête longitudinale	Pièges lumineux CDC	4 villages sentinelle	mi août/fin novembre de 1993 à 1999	Intérieur sans RII et extérieur	64 461 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
<b>Rythme d'agressivité des vecteurs</b>					
Enquête longitudinale	Pièges lumineux CDC	4 villages sentinelle	mi août/fin novembre de 1993 à 1999	Intérieur sans RII et extérieur	64 461 <i>An gambiae s.l.</i> femelles 10 263 <i>An. funestus s.l.</i> femelles
<b>Distribution spatiale des espèces de moustiques</b>					
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyréthrianoïde	84 villages 56 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Intérieur avec RII et sans RII	31 606 <i>An gambiae s.l.</i> femelles 1 984 <i>An. funestus s.l.</i> femelles 505 autres <i>Anopheles</i> femelles 1 063 non <i>Anopheles</i> femelles
Enquête transversale	Pièges lumineux CDC	78 villages 32 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Extérieur	9 466 <i>An gambiae s.l.</i> femelles 400 <i>An. funestus s.l.</i> femelles 753 autres <i>Anopheles</i> femelles 5 167 non <i>Anopheles</i> femelles
<b>Distribution de <i>An. gambiae s.l.</i> selon l'état de réplétion</b>					
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyréthrianoïde	84 villages 56 villages	Sept. 1995 Sept. 1996 à 1999	Intérieur avec RII et sans RII	31 606 <i>An gambiae s.l.</i> femelles

Type d'enquête	méthode de Capture	Lieu	Période	Position/ Intervention	Nb de moustiques capturés ou testés
<b>Distribution spécifique de <i>An. gambiae s.l.</i> au cœur et en dehors de la zone</b>					
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyréthrianoïde	17 villages	Sept. 1998 et 1999	Intérieur avec RII et sans RII	611 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
Enquête transversale	Pièges lumineux CDC	13 villages	Sept. 1998 et 1999	Extérieur	518 <i>An gambiae s.l.</i> femelles
<b>Distribution des formes chromosomiques de <i>An. gambiae s.s.</i></b>					
Enquête transversale	Pulvérisation d'un pyréthrianoïde	17 villages	Sept. 1999	Intérieur avec RII et sans RII	239 <i>An gambiaes s.s.</i> femelles
Enquête transversale	Pièges lumineux CDC	13 villages	Sept. 1999	Extérieur	209 <i>An gambiae s.s.</i> femelles
<b>Efficacité et rémanence de l'insecticide sur les RII</b>					
Enquête transversale	Capture manuelle	Villages sans RII	février et octobre 1994 à 1999	Intérieur sans RII	45 000 <i>An gambiae s.l.</i> femelles

## 4.2 Résultats analytiques

### 4.2.1 Dynamique de la population vectorielle dans les deux villages sentinelle de la zone témoin.

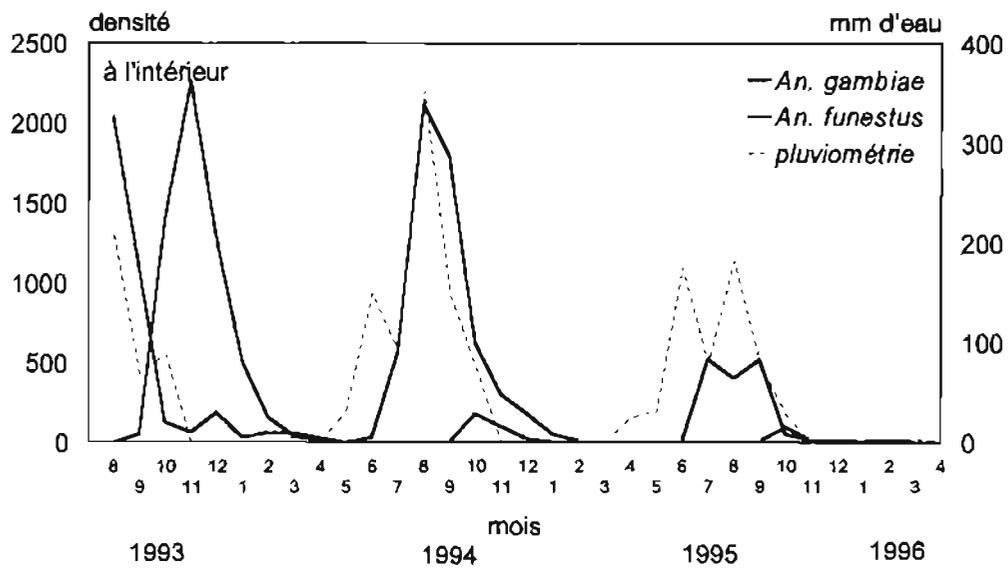
Les figures 10a, 10b et 10'a, 10'b présentent la dynamique mensuelle des populations de *An. gambiae s.l.* et *An. funestus s.l.*, à l'intérieur et à l'extérieur des cases des villages de Nougou et Watinoma, avant leur couverture par les RII.

A Nougou, au cours de la première année de collecte des données de base (année 1993), nous observons un pic de densité de *An. gambiae s.l.* en août (2046 femelles par case) au moment où *An. funestus s.l.* était encore inexistant (figure 10a) ; cette densité maximale diminuait progressivement pour atteindre une valeur minimale en novembre (65 femelles par case) ; elle passait à nouveau de 65 à 193 femelles par case en décembre avant de se rapprocher de zéro au cours de la saison sèche 1994. Chez *An. funestus s.l.*, le pic était observé en novembre (2265 femelles par case) au moment où les densités de *An. gambiae s.l.* étaient minimales. Les moyennes géométriques des densités à ces moments de fortes agressivités variaient de 2 000 à 2 500 femelles par case par mois. En 1994, le pic de densité de *An. gambiae s.l.* était également observé en août (2121 femelles par mois) au moment où *An. funestus s.l.* était encore inexistant (figure 10a). Les densités diminuaient progressivement jusqu'à 183 femelles par case en décembre avant de se rapprocher de zéro au cours de la saison sèche 1995. Au cours de cette année, les densités de *An. funestus s.l.* étaient très faible, avec un maximum de 183 femelles par case, enregistré en octobre. En 1995, les densités maximales de *An. gambiae s.l.* sont observées en juillet et septembre avec des valeurs toutefois plus faibles que celles observées les années précédentes (525 et 523 femelles par case respectivement) ; chez *An. funestus s.l.*, la densité la plus élevée est observée en octobre (100 femelles par case).

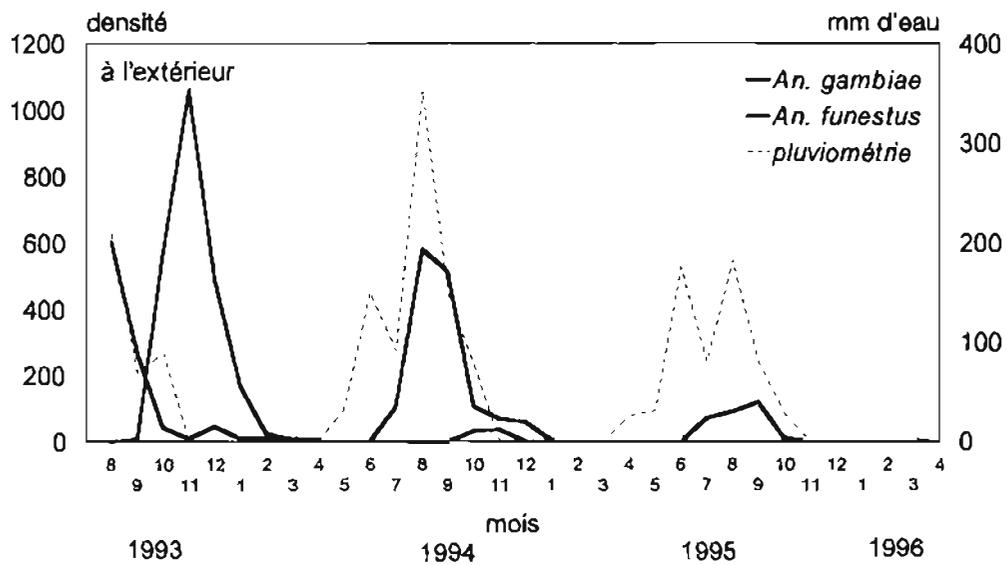
Sur toute la période de suivi (33 mois), les densités les plus faibles de *An. gambiae s.l.* étaient observées de janvier à juin, au moment où les pluies sont très faibles ou inexistantes ; elles augmentaient dès juin pour atteindre un maximum en pleine saison pluvieuse. Pour *An. funestus s.l.* par contre, les densités les plus faibles étaient observées de mars à septembre c'est à dire de la pleine saison sèche, au moment où la plupart des gîtes semi permanents ont tari, jusqu'à la première moitié de la saison pluvieuse. Cette espèce apparaissait beaucoup au cours de la deuxième moitié de la saison des pluies et se maintenait jusqu'en saison sèche. De manière générale, les pics d' *An. gambiae s.l.* se superposaient aux pics correspondant aux pluies, alors que la production maximale de *An. funestus s.l.* survenait à la fin des pluies.

Au cours de ces 3 années de collecte de données de base, nous observons une diminution de la densité de *An. funestus s.l.* par rapport à la première année, mais les maxima restaient situés approximativement à la même période.

L'examen de la dynamique de ces vecteurs à l'extérieur des cases de ce village présentait le même profil que celui de l'intérieur, mais avec des densités plus faibles (figure 10b).



**Figure 10a :** Evolution mensuelle des populations vectorielles d'août 1993 à avril 1996 à Nougou à l'intérieur des cases (échelle densité de 0 à 2500)



**Figure 10b :** Evolution mensuelle des populations vectorielles d'août 1993 à avril 1996 à Nougou à l'extérieur des cases (échelle densité de 0 à 1200)

A Watinoma, les densités de *An. gambiae s.l.* étaient beaucoup plus faibles que celles enregistrées dans le village de NOUNGOU et *An. funestus s.l.* était presque inexistant au cours des 3 années de suivi des densités vectorielles avant intervention (Figure 10'a).

Les plus fortes densités de *An. gambiae s.l.* étaient observées en septembre 1993 avec une moyenne géométrique de 230 femelles par case, en août 1994 avec une moyenne géométrique d'environ 600 femelles par case et en septembre 1995 avec une moyenne géométrique d'environ 100 femelles par case.

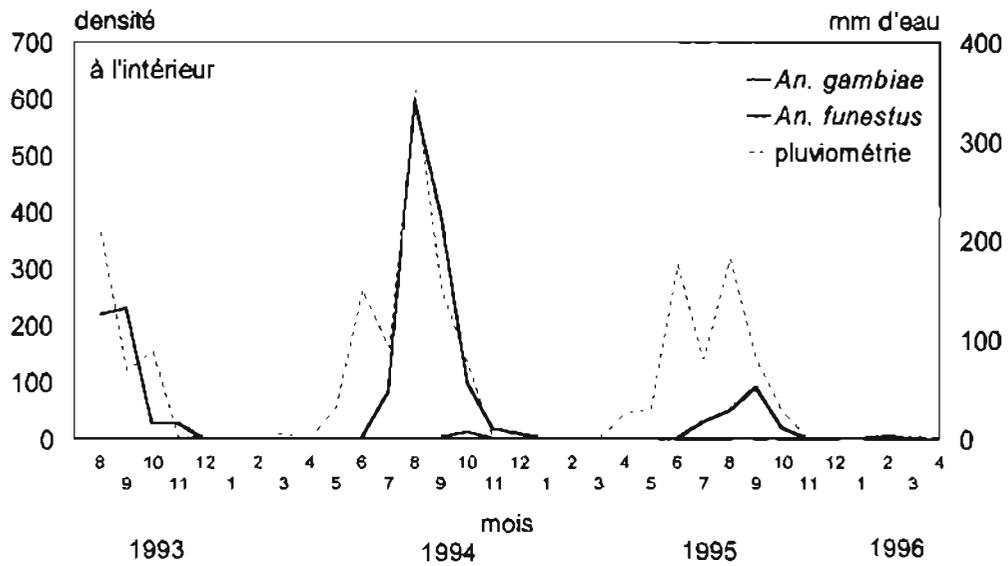
Au cours des 33 mois de suivi, les densités de *An. gambiae s.l.* étaient proches de zéro de décembre à juin puis remontaient progressivement jusqu'à la valeur maximale en septembre.

L'examen de la dynamique des vecteurs à l'extérieur des cases de ce village montrait le même profil qu'à l'intérieur, quoique les densités observées soient plus faibles (figure 10'b).

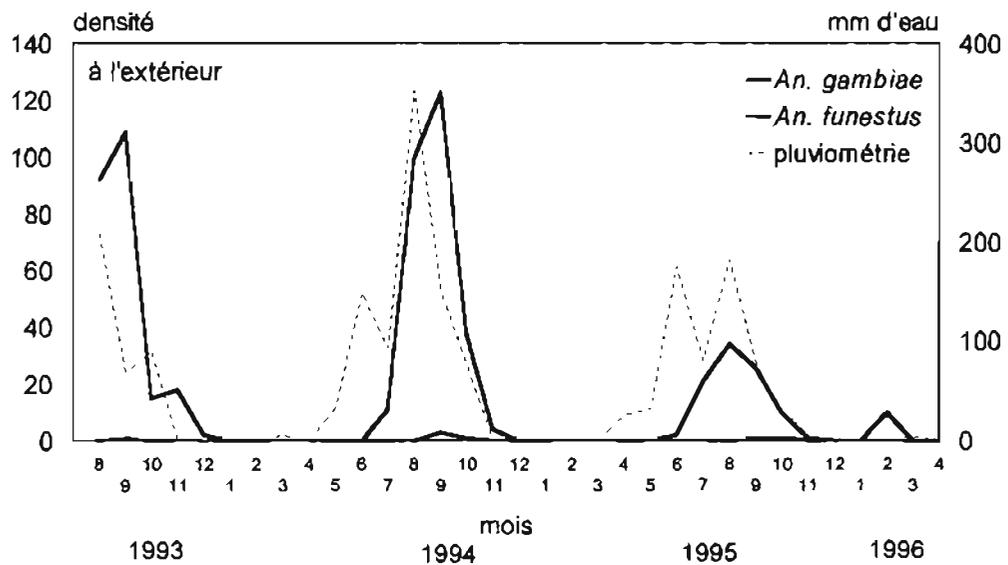
Nous pouvons faire les mêmes remarques que précédemment quant à la distribution des pics par rapport aux pluies.

De façon générale, les densités de *An. gambiae s.l.* variaient d'un village à l'autre mais le profil était le même. Elles étaient presque nulles de janvier à juin et remontaient à partir de juin pour atteindre un maximum entre août et septembre. Ces densités baissaient à nouveau à partir d'octobre et étaient proches de zéro à partir de novembre.

Ces variations de densité montraient que le maximum de vecteurs était capturé entre juin et novembre chaque année dans ces villages c'est à dire pendant la saison pluvieuse; c'est pourquoi après la couverture totale des villages par les RII en juin/juillet 1996, nous avons décidé de réaliser nos échantillonnages pendant cette période.



**Figure 10'a** :Evolution mensuelle des populations vectorielles d'août 1993 à avril 1996 à Watinoma à l'intérieur des cases (échelle densité de 0 à 700)



**Figure 10'b** :Evolution mensuelle des populations vectorielles d'août 1993 à avril 1996 à Watinoma à l'extérieur des cases (échelle densité de 0 à 140)

La diminution de la densité de *An. funestus s.l.* au cours des années à Nougou et dans les autres villages sentinelle (Somnaway et Signoguen, figures non présentées), son absence à Watinoma, nous ont conduit à focaliser nos investigations sur *An. gambiae s.l.* pour la suite des travaux .

#### 4.2.2 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres de la transmission

La période concernée par cette étude s'étale du 16 août au 30 novembre pour la comparaison des différents paramètres dans les cases avec et sans RII. Il aurait été plus intéressant de considérer toute la période de la saison des pluies. Deux raisons nous ont empêché de le faire :

- les premières captures de l'année de base n'ont commencé que le 27 juillet 1993,
- les premières captures dans les cases avec RII dans les villages protégés n'ont commencé que le 16 août 1994.

Nous avons donc choisi la période commune à toutes les années, (16 août au 30 novembre) pour comparer toutes les années de suivi sur la même base,.

Pour l'étude de la dynamique de l'agressivité, de l'indice sporozoïtique et de la transmission, nous avons toutefois pu étendre la période couverte par les graphiques de juillet à novembre de chaque année, sauf pour 1993 à partir d'août, quand a commencé la collecte des premières données entomologiques de façon régulière. En effet, pour l'étude de la dynamique, il est plus intéressant de couvrir toute la période de la transmission pour détecter un éventuel impact des RII sur le profil de cette dynamique. Nous ne nous sommes pas limités dans ce cas aux captures réalisées à partir de mi-août 1994 dans les cases avec RII, car seuls les résultats des captures à l'extérieur ou à l'intérieur des cases sans RII étaient concernés.

#### 4.2.2.1 Effet des rideaux imprégnés d'insecticide sur l'agressivité de *An.*

*gambiae* s.l.

##### 4.2.2.1.1 à l'intérieur des cases

- Enquêtes longitudinales

Dans les cases protégées des villages sentinelle, les agressivités pour la période mi-août à fin novembre de *An. gambiae* s.l., mesurées après captures à l'aide des pièges lumineux CDC, baissaient de façon très importante suite à l'installation des RII (tableau 4). En 1996, 1997 et 1998, elles devenaient très faibles ou proches de zéro dans les 4 villages sentinelle.

Par rapport à l'année de base, les agressivités de *An. gambiae* s.l. augmentaient en 1994 dans les villages contrôle pendant la saison d'échantillonnage, ce qui n'était pas le cas dans ceux ayant reçu les RII.

La réduction des agressivités à l'intérieur des cases non protégées des villages protégés était moins importante que celle mesurée dans les cases protégées avec les RII, quoique ces agressivités diminuaient tout de même d'au moins 50% après l'installation des RII dans les villages (Tableau 4). Cette réduction paraissait suivre le même profil dans les deux villages protégés depuis 1994, où nous notons des baisses successives en 1994 et 1995. En 1996, les médianes du nombre de moustiques collectés pour chaque capture montraient une légère augmentation dans ces deux villages, puis en 1997, de nouveau une baisse. Dans les deux villages protégés à partir de 1996, la réduction était visible en 1996 pour Nougou seulement, où les agressivités dues à *An gambiae* s.l. en 1995 étaient plus fortes qu'à Watinoma (1104 contre 158). Dans ce même village, comparativement à l'année 1996, nous observons une légère augmentation des agressivités en 1997 suivie d'une baisse en 1998. A Watinoma, le nombre de piqûres d'*An gambiae* s.l. reçues par homme pendant les périodes de haute transmission passait de 166 en 1996 à 93 en 1997 puis à 78 en 1998.

**Tableau 4:** Agressivité de *An. gambiae s.l.* femelles à l'intérieur des cases des 4 villages sentinelle estimée pour la période du 16 août au 30 novembre pendant sept années de suivi

Année (pluviométrie annuelle)		Noungou		Watinoma		Somnaway		Signoguen	
		-RII	+RII	-RII	+RII	-RII	+RII	-RII	+RII
1993 (662 mm)	Agressivité	2433		421		7331		8120	
	Médiane	7 (3-33,5)		1 (0-5)		23 (8-79)		60 (37-101)	
	nb de captures	80		69		73		74	
1994 (860 mm)	Agressivité	4276		930		2384	1114	4425	502
	Médiane	25 (12-75)		3 (1-9)		6 (3-23)	2 (0-13,5)	15 (8-47)	2 (0-7)
	nb de captures	75		74		71	72	68	66
1995 (609 mm)	Agressivité	1104		158		1147	30	682	6
	Médiane	4 (0-4)		0 (0-3)		2 (1-12)	0 (0-0)	6 (1-11)	0 (0-0)
	nb de captures	83		79		74	74	70	68
1996 (637 mm)	Agressivité	743	0	166	0	451	0	1041	1
	Médiane	0 (0-11)	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-0)	3 (0-7)	0 (0-0)	8 (4-17)	0 (0-0)
	nb de captures	71	63	75	58	74	73	70	69
1997 (642 mm)	Agressivité	977	0	93	0	316	0	904	0
	Médiane	4 (0-19)	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-0)	1 (0-5)	0 (0-0)	7 (4-14)	0 (0-0)
	nb de captures	84	84	74	73	75	75	82	82
1998* (831 mm)	Agressivité	337	3	40	0	64	0	619	0
	agres. estimée	626		78		182		1369	
	Médiane	2 (0-7)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-3)	0 (0-0)	6 (2-8)	0 (0-0)
1999 (772 mm)	nb de captures	59	59	57	57	58	58	57	59
	Agressivité	2449	0	623	0	942	0	4474	0
	Médiane	11 (2-39)	0 (0-0)	1 (0-7)	0 (0-0)	5 (0-15)	0 (0-0)	16 (7-79)	0 (0-0)
	nb de captures	86	85	78	81	84	77	81	85

\* Données tronquées -- pour des raisons techniques, il n'y a pas eu de captures en Septembre - estimation de l'agressivité

+ RII : Dans les cases protégées par les rideaux imprégnés d'insecticide

- RII : Dans les cases non protégées

médiane (quartile inférieur-quartile supérieur) ; la médiane correspond à la médiane du nombre de moustiques capturés pour chaque observation pour la période 16 août au 30 novembre chaque année.

Il est important de noter qu'au mois de septembre 1998, pour des raisons techniques, nous n'avons pas pu effectuer de captures dans les villages sentinelle. Nous avons donc estimé les densités vectorielles cumulatives en multipliant les densités obtenues pour les autres mois par un facteur d'ajustement déterminé à partir des résultats des années précédentes. En effet, nous avons calculé à partir des données de 1993 à 1997 toutes années confondues, pour chaque village et pour la période mi-août à fin novembre, le pourcentage de femelles représenté en septembre lors des captures effectuées à l'intérieur et à l'extérieur des cases. Les pourcentages obtenus ont été appliqués pour ajuster les valeurs de 1998.

En 1999, nous observons dans les cases non protégées des villages protégés une remontée des agressivités dans tous les villages sentinelle avec des densités quelques fois plus élevées que celles observées en année de base comme c'est le cas à Nougou ; cependant, dans les cases protégées, ces agressivités étaient toujours nulles (tableau 4).

Les agressivités moyennes annuelles calculées selon les périodes d'installation des RII nous permet de bien observer les importantes réductions des agressivités dans les cases protégées mais aussi non protégées des villages sentinelle (tableau 5).

Les figures 11a, 11b, 11c et 11d présentent la dynamique de l'agressivité dans les cases non protégées des 4 villages sentinelle de juillet à novembre de chaque année, sauf pour 1993 à partir d'août. Dans tous ces villages, nous remarquons que le maximum d'agressivité due à *An. gambiae s.l.* se situait entre août et septembre chaque année ; le fait d'installer des RII ne semble pas avoir déplacé ce pic d'agressivité.

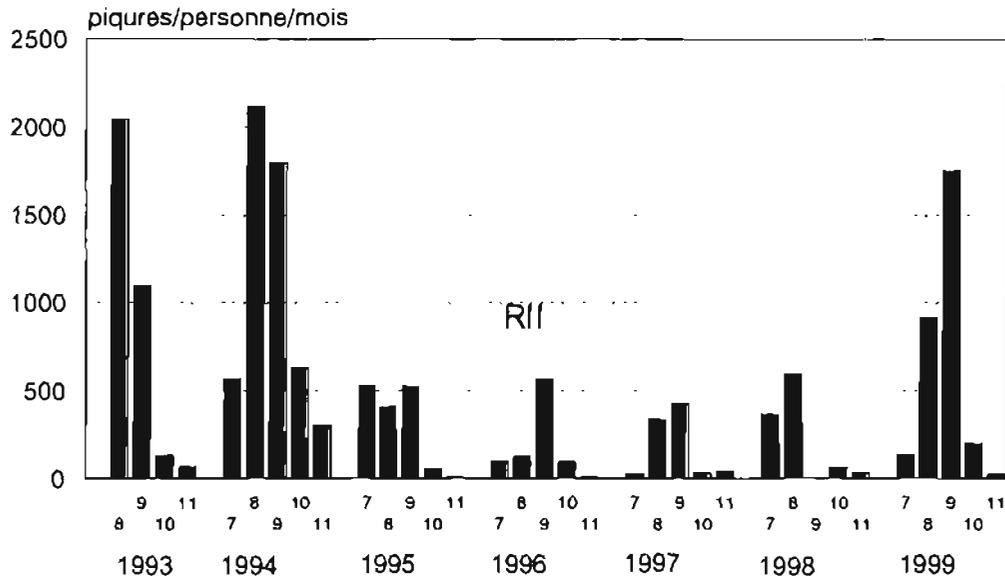
**Tableau 5 : Agressivités moyennes annuelles de *An. gambiae s.l.* femelles à l'intérieur des cases des 4 villages sentinelle estimées pour la période du 16 août au 30 novembre**

	Noungou		Watinoma		Somnaway		Signoguen	
	-RII	+RII	-RII	+RII	-RII	+RII	-RII	+RII
1993 – sans RII	2433	néant	421	néant	7331	néant	8120	néant
1994-1995 2 villages RII	2690	néant	544	néant	1766	572	2554	254
1996-1999* 4 villages RII	1199	1	240	0	473	0	1947	0,3

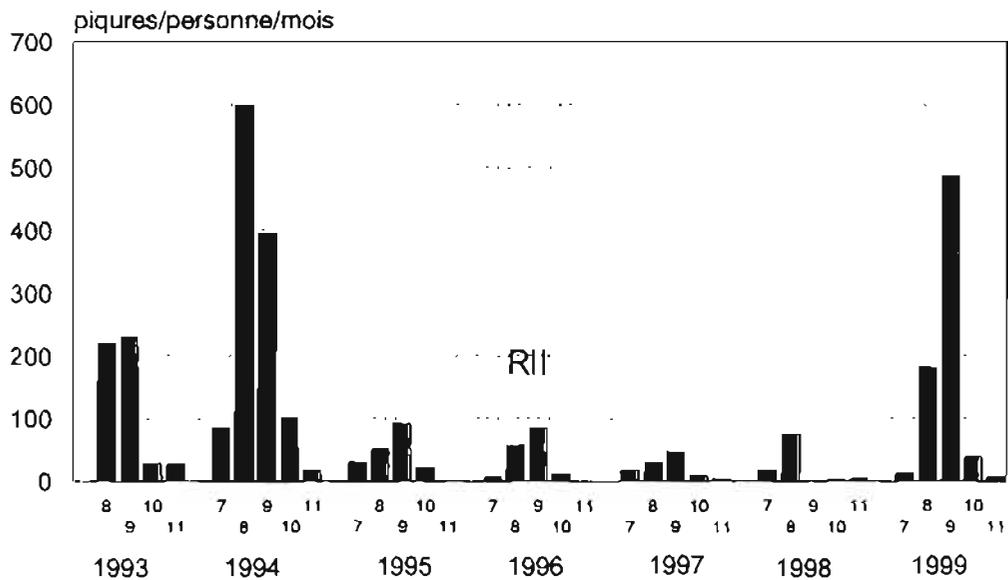
\* agressivité estimée pour septembre 1998

+ RII : Dans les cases protégées par les rideaux imprégnés d'insecticide

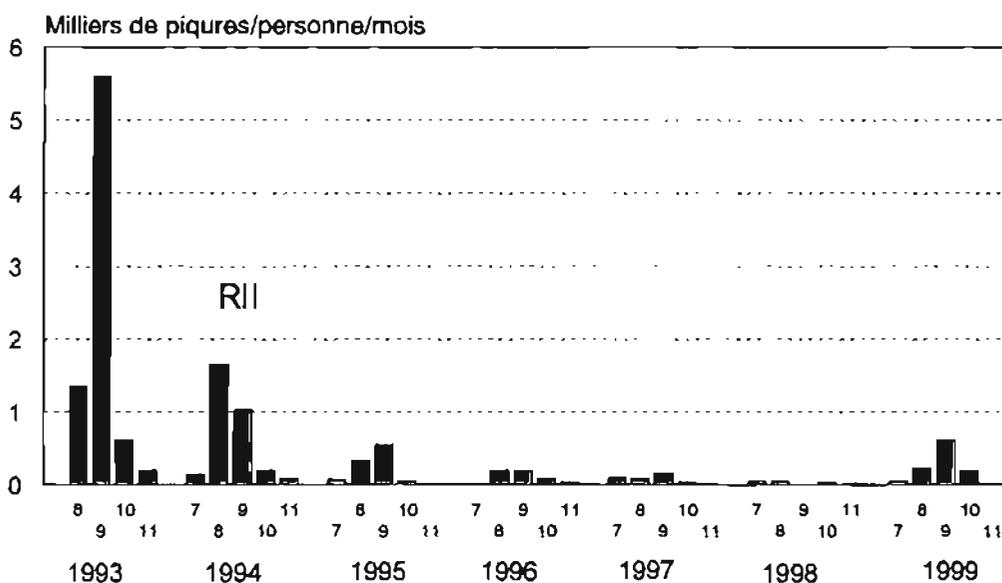
- RII : Dans les cases non protégées



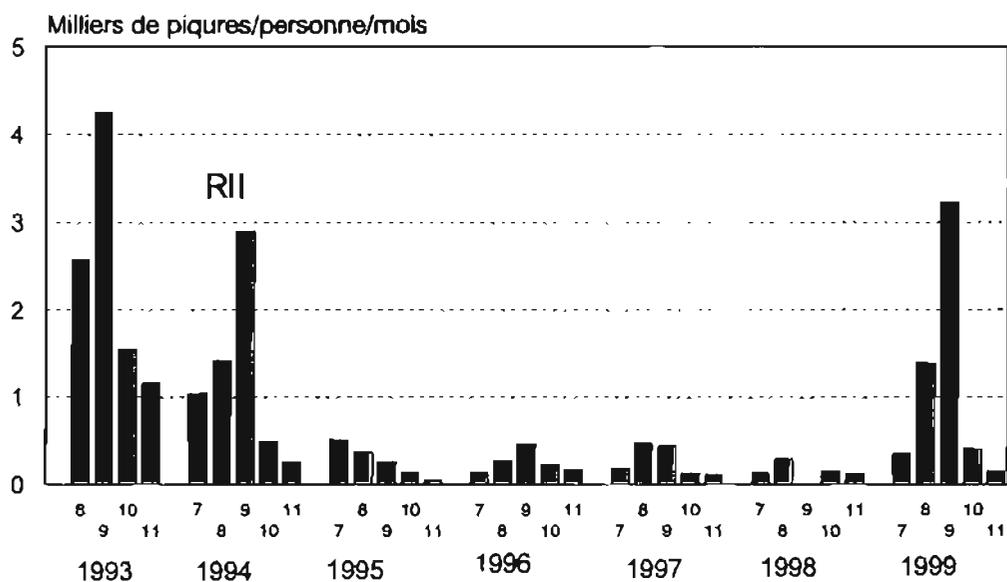
**Figure 11a :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Nougou dans les cases non protégées  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période.



**Figure 11b :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Watinoma dans les cases non protégées  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période.



**Figure 11c :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Somnaway dans les cases non protégées  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période.



**Figure 11d :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Signoguen dans les cases non protégées  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

- Enquêtes transversales

Les agressivités dues à *An. gambiae s.l.* estimées à partir des captures après pulvérisation d'un insecticide à base de pyrèthre dans les cases montraient que les populations sous RII recevaient moins de 1 piqûre/personne/nuit contre 3 à 12 pour les populations à l'extérieur de la zone (Tableau 6). De grandes variations survenaient d'une année à l'autre: en 1997, l'agressivité était beaucoup plus faible hors zone que ce qui avait été mesurée l'année précédente et en 1999 on pouvait noter une augmentation des agressivités aussi bien dans la zone protégée par les RII qu'en dehors de cette zone. Ainsi, les agressivités ont doublé dans la zone intervention (de 0,3 à 0,5) et ont augmenté de plus de 50% dans les villages hors zone (de 7,3 à 11,7).

#### 4.2.2.1.2 à l'extérieur des cases

- Enquêtes longitudinales

En accord avec les observations précédentes qui montraient la forte réduction de l'agressivité dans les cases protégées ou non des villages ayant reçu les RII, les résultats obtenus lors des captures à l'extérieur des cases montraient les mêmes profils, avec des réductions successives jusqu'en 1995 dans les deux villages couverts par les RII depuis 1994 (Tableau 7). Pendant les deux années suivantes (1996 et 1997), les médianes oscillaient autour de 0 avant de revenir à 0 en 1998. En 1999, nous observons dans ces villages une remontée des agressivités atteignant les valeurs de 1994, année d'installation des RII dans ces villages ; les médianes étaient de 2 et 9 dans ces 2 villages.

Dans les villages couverts en 1996, les agressivités à l'extérieur des cases étaient les mêmes en 1995 et 1996 ; par contre en 1997, elles avaient diminué dans ces deux villages. Les agressivités à l'extérieur montraient une certaine stabilisation des valeurs en 1997 et en 1998, bien que les valeurs de 1998 aient été estimées comme précédemment expliqué. En

1999, une augmentation des agressivités était observée avec des valeurs dépassant à Nounkou celles de l'année de base. Les médianes oscillaient autour de zéro.

Les figures 12a, 12b, 12c et 12d présentent l'évolution mensuelle des agressivités dues à *An. gambiae s.l.* à l'extérieur des cases au cours des années de suivi. Tout comme à l'intérieur, les agressivités dues à *An. gambiae s.l.* étaient maximales en août/septembre chaque année dans tous les villages.

**Tableau 6 :** Agressivité de *An. gambiae s.l.* à l'intérieur des cases de la zone d'étude, estimée pour chaque nuit du mois de septembre pendant 5 années de suivi

		Intervention depuis 1994 8 secteurs	Intervention depuis 1996 8 secteurs pas encore de RII	Pas d'intervention 1 secteur
1995 (609mm)	Moyenne	0,5	8,7	
	min-max	(0,0-1,1)	(3,4-22,0)	
	nb de captures	120	131	
1996 (637 mm)	Moyenne	0,6	0,3	8,0
	min-max	(0,1-1,9)	(0,0-0,5)	
	nb de captures	143	144	45
1997 (642 mm)	Moyenne	0,2	0,2	2,7
	min-max	(0,0-0,3)	(0,1-0,4)	
	nb de captures	288	284	96
1998 (831 mm)	Moyenne	0,3	0,3	7,3
	min-max	(0,1-0,6)	(0,1-0,4)	
	nb de captures	286	287	96
1999 (772 mm)	Moyenne	0,5	0,5	11,7
	min-max	(0,3-1,1)	(0,2-1,0)	
	nb de captures	288	276	96

N.B. Ces enquêtes transversales étaient réalisées chaque année en septembre, pic de la transmission du paludisme au Burkina Faso. En 1995, 84 villages étaient concernés et de 1996 à 1999, 48 villages de la zone d'intervention et 8 villages à l'extérieur de cette zone.

En 1995, l'indice d'anthropophilie n'ayant pas été mesuré, l'agressivité tient compte des femelles gorgées en général et pas seulement sur humain comme pour les autres années.

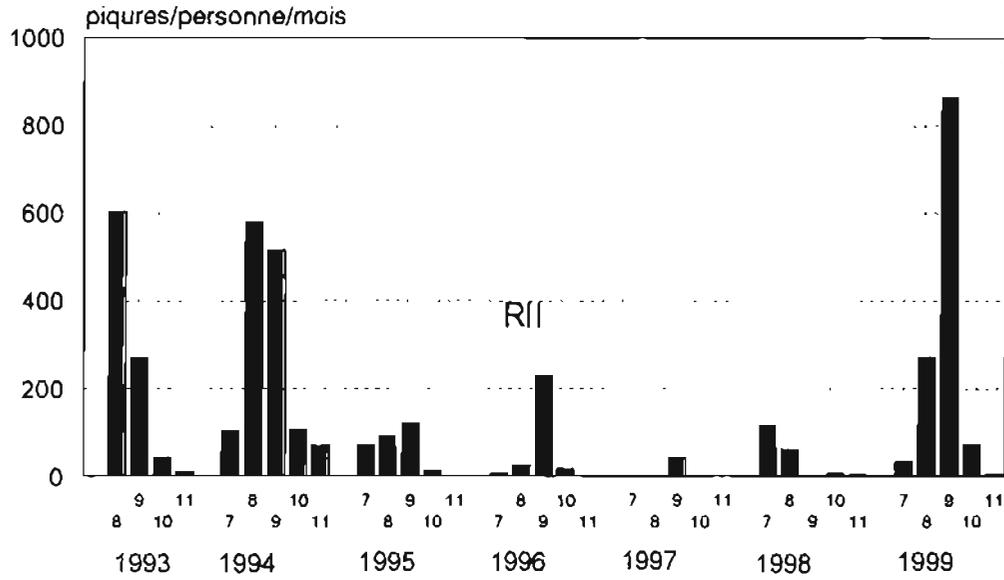
Min-max = valeur minimale et valeur maximale de l'agressivité observée par secteur

**Tableau 7:** Agressivité de *An. gambiae* s.l. femelles à l'extérieur des cases des 4 villages sentinelle, estimée après les captures CDC pour la période du 16 août au 30 novembre chaque année, pour sept années de suivi

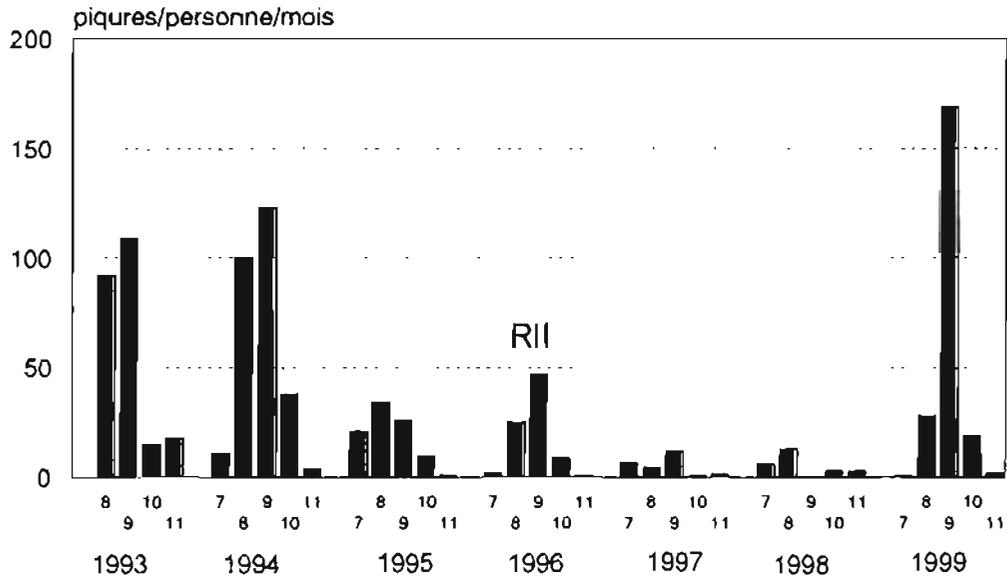
Année (pluviométrie annuelle)		Noungou	Watinoma	Somnway	Signoguen
1993 (662 mm)	Agressivité	659	217	4137	4731
	Médiane	3 (0-8,5)	1 (0-4)	12 (3-50)	36,5 (18-72)
	nb de captures	80	69	73	74
1994 (860 mm)	Agressivité	1102	227	587	2299
	Médiane	6 (0-19)	1 (0-4)	4 (1-8)	7 (3-23)
	nb de captures	75	74	71	68
1995 (609 mm)	Agressivité	222	64	296	237
	Médiane	0 (0-8)	0 (0-1)	0 (0-3)	0 (0-4)
	nb de captures	83	79	74	70
1996 (637 mm)	Agressivité	269	75	262	522
	Médiane	0 (0-2)	0 (0-0)	0,5 (0-4)	5 (2-9)
	nb de captures	71	75	74	70
1997 (642 mm)	Agressivité	51	16	134	338
	Médiane	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-2)	3 (0-7)
	nb de captures	84	74	75	82
1998* (831 mm)	Agressivité	45	11	22	74
	agres. estimée	92	25	71	118
	Médiane	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-4)
1999 (772 mm)	nb de captures	59	57	58	61
	Agressivité	1089	200	427	2307
	Médiane	5 (0-20)	0 (0-2)	2 (0-7)	9 (2-40,5)
	nb de captures	86	78	84	81

\* Données tronquées – pour des raisons techniques, il n'y a pas eu de captures en septembre - estimation de l'agressivité

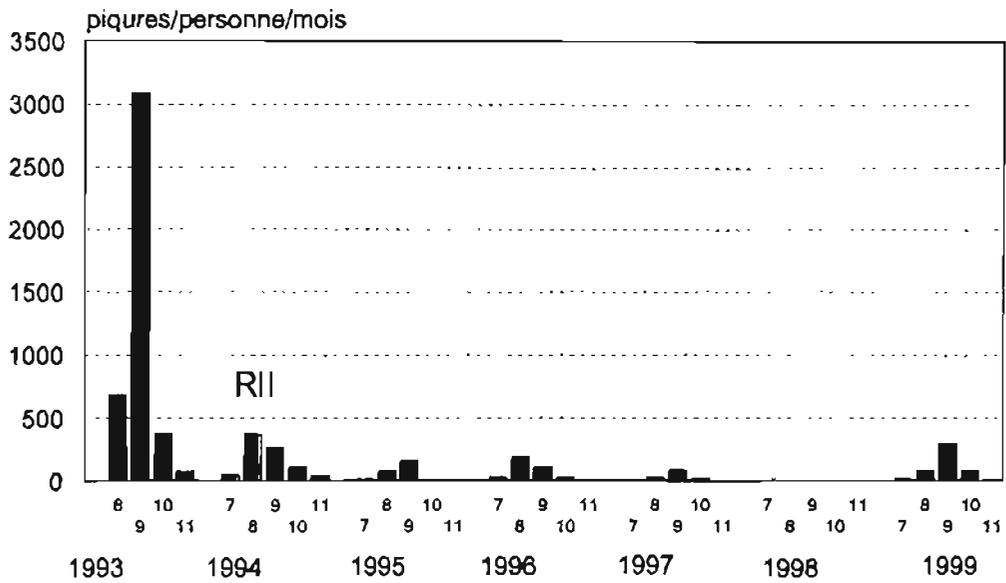
médiane (quartile inférieur-quartile supérieur) ; la médiane correspond à la médiane du nombre de moustiques capturés pour chaque observation pour la période 16 août au 30 novembre de chaque année.



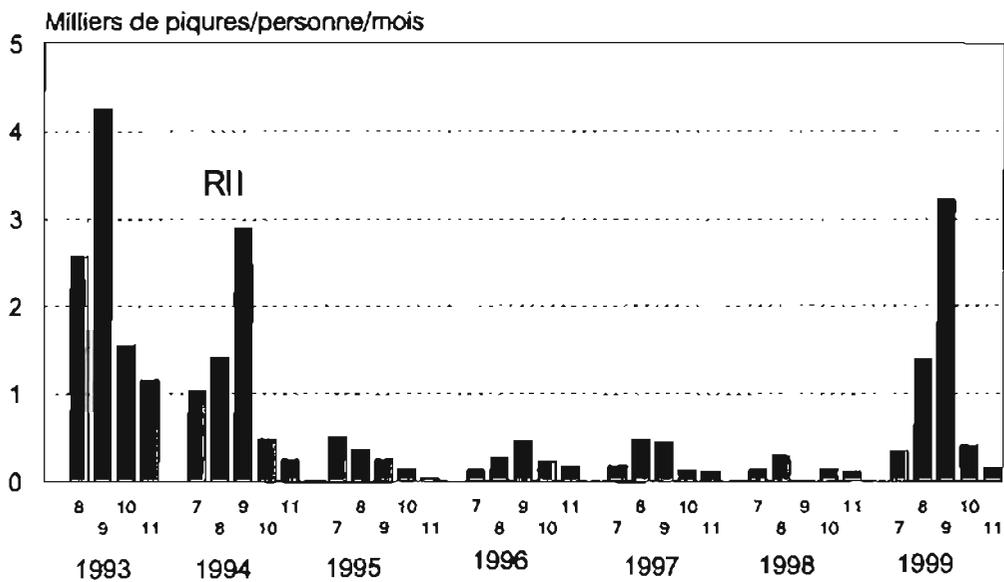
**Figure 12a :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Nougou à l'extérieur des cases  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 12b :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Watinoma à l'extérieur des cases  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 12c :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Somnaway à l'extérieur des cases  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 12d :** Dynamique mensuelle de l'agressivité de *An. gambiae s.l.* pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Signoguen à l'extérieur des cases  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

▪ Enquêtes transversales

Les agressivités dues à *An. gambiae s.l.* estimées à partir des captures à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases montraient que les populations des villages protégés par les RII qui restaient en dehors des cases recevaient 2 à 8 fois moins de piqûres que celles qui vivaient à l'extérieur des cases dans les villages sans RII (Tableau 8). En 1999, les agressivités à l'extérieur des cases de la zone protégée augmentaient jusqu'à 9 piqûres/homme/nuit tandis que, en dehors de cette zone, les densités agressives avoisinaient 25 piqûres/homme/nuit. Cette augmentation des agressivités avait déjà été mentionnée pour les captures à l'intérieur des cases.

**Tableau 8:** Agressivité de *An. gambiae s.l.* à l'extérieur des cases de la zone d'étude, estimée pour chaque nuit de septembre pendant 5 années de suivi

Année (pluviométrie annuelle)		Intervention depuis 1994 8 secteurs	Intervention depuis 1996 8 secteurs	Pas d'intervention 1 secteur
			pas encore de RII	
	Moyenne/secteur	2,2	4,4	n. d.
1995	min-max	(0,3 – 6,9)	(0,3 – 12,5)	
(609 mm)	nb captures	70	86	
	Moyenne/secteur	1,7	n. d.	6,7
1996	min-max	(0,8 – 3,9)	n. d.	
(637 mm)	nb captures	215	n. d.	72
	Moyenne/secteur	1,3	n. d.	5,4
1997	min-max	(0,3 – 5,6)	-	
(842 mm)	nb captures	216	n. d.	72
	Moyenne/secteur	1,9	n. d.	14,3
1998	min-max	(0,4 – 5,2)	-	
(831 mm)	nb captures	216	n. d.	72
	Moyenne/secteur	8,9	n. d.	24,6
1999	min-max	(3,9-14,6)	-	
(772mm)	nb captures	216	n. d.	72

n. d. = non disponible

Min-max : valeur minimale et valeur maximale de l'agressivité observée par secteur

#### 4.2.2.2 Influence des rideaux imprégnés d'insecticide sur les taux d'infection de *An. gambiae* s.l.

- Enquêtes longitudinales

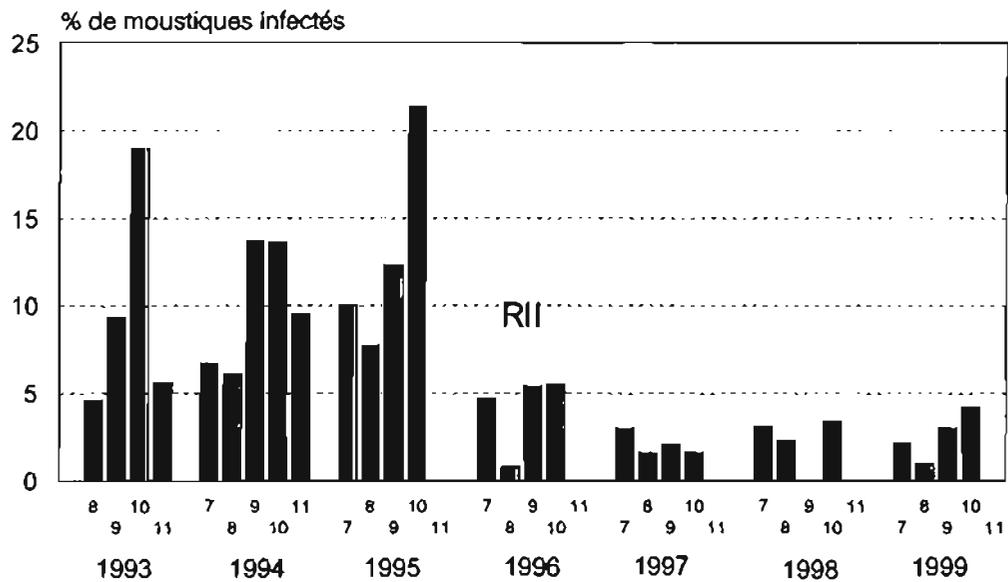
L'impact de l'intervention sur l'agressivité due à *An. gambiae* s.l. s'accompagnait d'une réduction des taux d'infection de ce moustique dans les villages sentinelle dès l'installation des RII dans les villages, soit 1994 pour Somnaway et Signoguen et 1996 pour Nougou et Watinoma. Les taux sporozoïtiques pour chacun des 4 villages sentinelle pour la période de mi-août à fin novembre sont donnés dans le Tableau 9. En 1998, aucune donnée n'était disponible pour le mois de septembre, aussi, présentons-nous les taux sporozoïtiques pour la période sans inclure le mois de septembre. Dans 3 des 4 villages (Nougou, Watinoma et Somnaway), les taux sporozoïtiques restaient bas (< 5%) pour les 4 dernières années, sans aucune indication d'une augmentation pendant cette période. A Signoguen, le taux sporozoïtique dépassait les 5% en 1998.

Le suivi de l'évolution de l'indice sporozoïtique, mois par mois pour chacun des villages sentinelle est exprimé sur les figures 13a, 13b, 13c et 13d. Nous remarquons de façon générale que c'était en fin de saison pluvieuse, en particulier les mois de septembre et octobre, qu'il y avait le plus de moustiques infectés. L'installation des RII réduisait fortement l'indice sporozoïtique, en particulier pour les mois où les valeurs étaient très élevées. Pour le mois de septembre 1998, aucune donnée n'était disponible pour les raisons déjà évoquées.

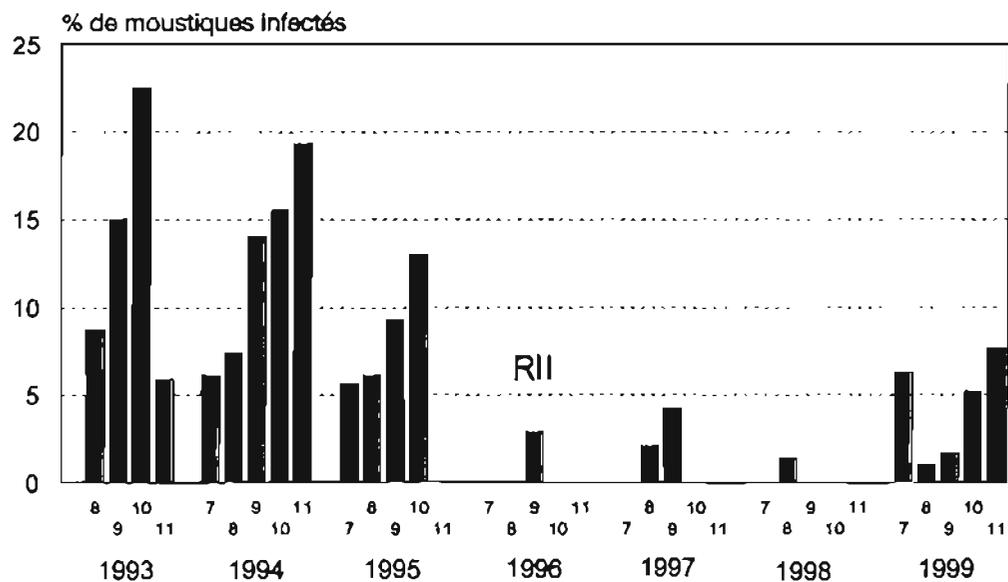
**Tableau 9:** Indice sporozoïtique (IS) chez *An. gambiae s.l.* estimé pour la période mi août /fin novembre de chaque année, après capture CDC à l'intérieur et à l'extérieur des cases des 4 villages sentinelle.

	Noungou (RII en 1996)	Watinoma (RII en 1996)	Somnaway (RII en 1994)	Signoguen (RII en 1994)
	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)
1993	7.8 (1906)	12.0 (575)	6.4 (2829)	16.9 (4090)
1994	9.7 (1637)	11.0 (518)	2.5 (1242)	6.8 (1455)
1995	11.9 (1498)	9.6 (213)	1.4 (1065)	4.2 (861)
1996	4.5 (561)	1.5 (258)	1.4 (1081)	3.7 (1185)
1997	1.8 (1012)	3.3 (118)	0.9 (587)	4.2 (1270)
1998*	2.0 (506)	1.0 (96)	0.8 (116)	6.3 (559)
1999	2.5 (1726)	1.8 (988)	1.7 (1394)	4.1 (2513)

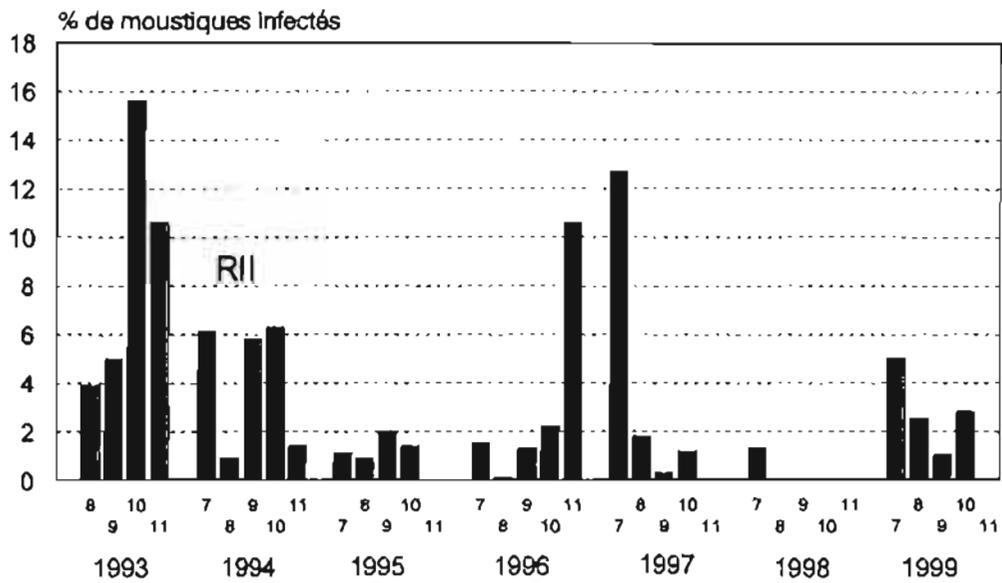
\* données sans le mois de septembre



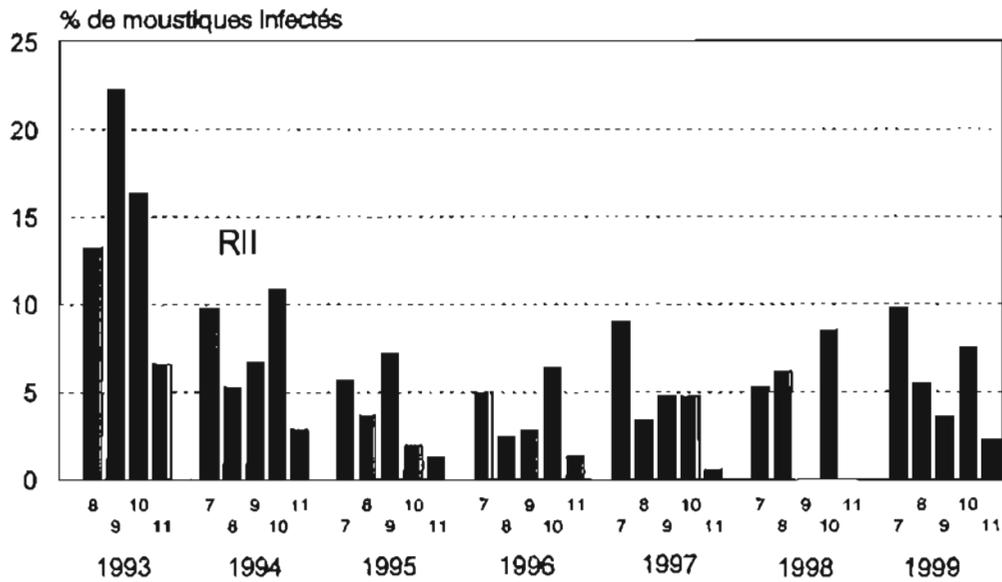
**Figure 13a:** Variation de l'indice sporozoïtique pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Nougou  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 13b:** Variation de l'indice sporozoïtique pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Watinoma  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 13c:** Variation de l'indice sporozoïtique pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Somnaway  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 13d:** Variation de l'indice sporozoïtique pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Signouen  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

- Enquêtes transversales

Lors des enquêtes transversales conduites chaque année au mois de septembre, nous observons des taux sporozoïtiques toujours plus faibles dans les villages de la zone d'intervention que dans les villages à l'extérieur de cette zone (Tableau 10).

Il faut noter que, de 1995 à 1998, les indices sporozoïtiques mesurés sur *An. gambiae s.l.* capturés après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases étaient toujours plus faibles que ceux mesurés après capture à l'aide des pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases. Cela s'expliquerait par le fait que, indépendamment du lieu de capture (intérieur ou extérieur des cases), les pièges lumineux prennent plus de femelles âgées que les captures après pulvérisation d'un insecticide. En effet, les captures faites dans les villages sentinelle à l'aide des pièges lumineux à l'intérieur et à l'extérieur des cases donnaient des indices sporozoïtiques comparables, raison pour laquelle nous avons d'ailleurs décidé de calculer un indice par village, indépendamment du fait que les moustiques soient capturés dedans ou dehors.

#### 4.2.2.3 Influence des rideaux imprégnés d'insecticide sur le taux d'inoculation entomologique de *An. gambiae s.l.*

- Enquête longitudinale

Les diminutions des agressivités de *An. gambiae s.l.* et des taux sporozoïtiques observées après l'installation et l'utilisation des RII entraînaient une grande baisse du Taux d'Inoculation Entomologique (TIE). Dans les 2 villages couverts depuis 1994 (Somnaway et Signoguen), nous remarquons que le TIE à l'intérieur des cases protégées, pour la période mi-août/fin novembre chutait de quelques centaines de piqûres infectées en 1993 à moins d'une piqûre, deux ans après l'introduction des RII ; trois et quatre ans après, il atteignait 0 (figure 14). A la fin de notre suivi en 1999, ces valeurs se situaient toujours autour de zéro.

**Tableau 10:** Indice sporozoïtique (IS) estimé chez *An. gambiae s.l.* capturé à l'intérieur et à l'extérieur des cases lors des enquêtes transversales en septembre

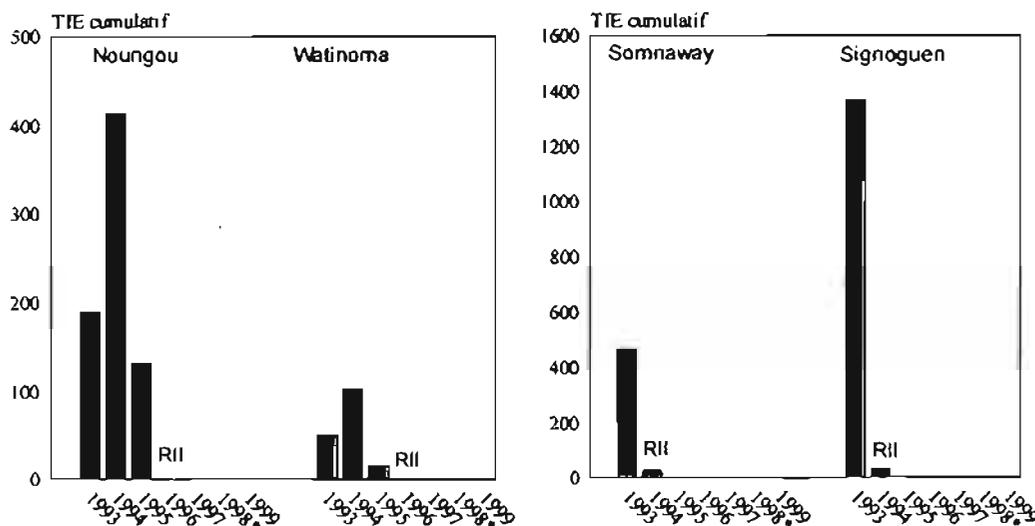
Source	Zone avec RII depuis 1994		Zone avec RII depuis 1996		8 villages hors zone	
	CDC dehors	CP dedans	CDC dehors	CP dedans	CDC dehors	CP dedans
	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)	IS en % (nb testé)
1995	7,2 (146)	4,7 (200)	15,4* (361)	11,4* (2640)	n. d.	n. d.
1996	8,5 (591)	2,5 (266)	n. d.	3,2 (149)	14,6 (848)	13,7 (2831)
1997	4,1 (350)	3,1 (336)	n. d.	2,7 (273)	7,9 (443)	6,6 (1765)
1998	6,0 (493)	3,5 (356)	n. d.	4,1 (358)	9,3 (896)	8,7 (2544)
1999	3,8 (2405)	4,4 (587)	n. d.	4,2 (613)	8,3 (1162)	9,2 (1952)

CDC = pièges CDC - CP = captures au pyrèthre

\*en 1995, les secteurs concernés n'avaient pas encore reçu les RII donc étaient considérés comme contrôle.

n. d. = non disponible : Pour des raisons pratiques, les captures CDC n'étaient réalisées que dans 24 villages couverts depuis 1994 et, également dans les 8 villages hors zone à partir de 96.

7 à 8 secteurs étaient concernés dans les zones couvertes en 1994 et 1996 ; les 8 villages hors zone constituaient également un secteur.

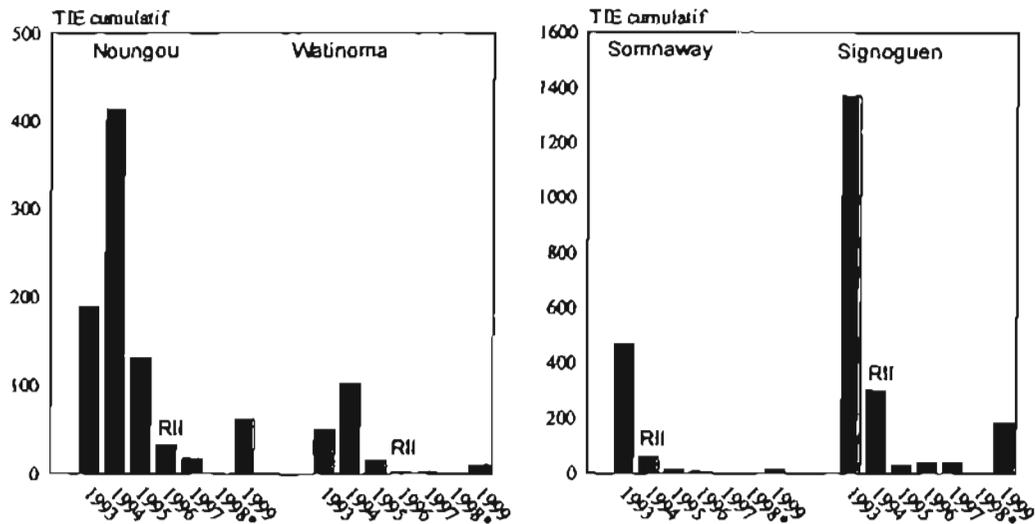


**Figure 14 :** Nombre de piqûres infectées reçues par homme à l'intérieur des cases protégées durant la période mi août/fin novembre chaque année, dans chacun des 4 villages sentinelles RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

Dans les villages couverts depuis 1996 et dans lesquels les TIE avant introduction des RII étaient moins élevés que dans les deux autres villages, les TIE tombaient à 0 immédiatement après introduction des RII en 1996, puis en 1997. Ces valeurs restaient autour de zéro jusqu'à la fin de notre suivi en 1999.

Les données obtenues à partir des captures à l'intérieur des cases non protégées par les RII (figure 15) et à l'extérieur (figure 16), laissent supposer que même si des membres de la communauté d'un village protégé vivaient dehors ou dans des cases non protégées, ils seraient exposés à moins de piqûres infectantes suite à la présence des RII dans le village. Le TIE pour la période mi août/fin novembre, mesuré dans les cases sans RII à Somnaway et Signoguen couverts depuis 1994, semblait se stabiliser en 1996 et 1997, après une réduction de plusieurs centaines de piqûres infectées en 1993 à quelques dizaines en 1995. En 1999, ces valeurs remontaient pour atteindre celles de 1995 (soit 1 année après l'introduction des RII) dans ces 2 villages. A l'extérieur des cases de ces villages, les réductions des TIE étaient successives, allant de plusieurs centaines en 1993 à quelques dizaines à Signoguen et même à moins de 10 piqûres infectées par personne pour la même période à Somnaway en 1997. En 1999, nous observons une remontée de ces valeurs dans les 2 villages.

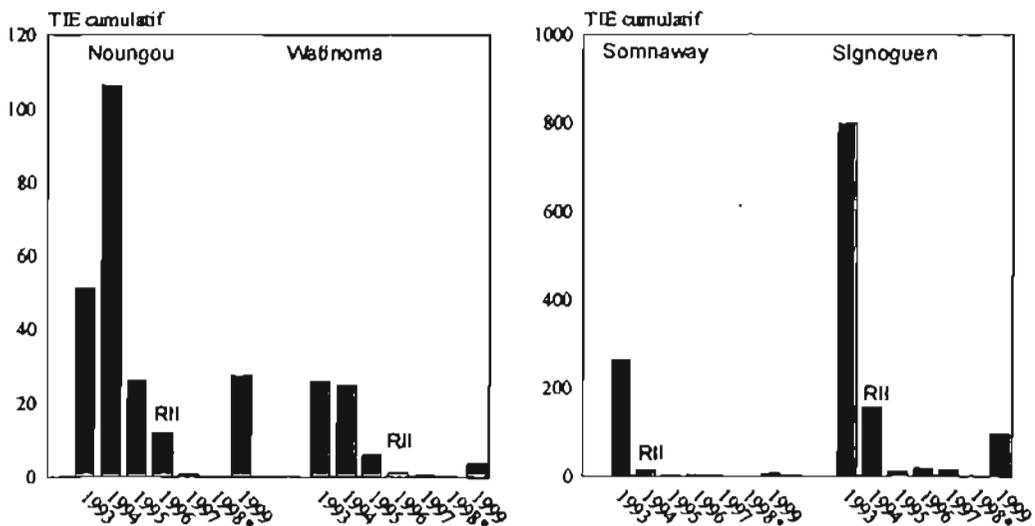
A Nougou et Watinoma, couverts depuis 1996, le TIE pour la période mi-août/fin novembre, mesuré à l'extérieur diminuait en 1996 et 1997 ; cette réduction était un peu moins marquée à l'intérieur des cases non protégées .



**Figure 15** : Nombre de piqûres infectées reçues par homme durant la période mi août/fin novembre chaque année, dans chacun des villages sentinelle à l'intérieur des cases non protégées.

RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

\*Pas de calcul du TIE en 1998



**Figure 16** : Nombre de piqûres infectées reçues par homme durant la période mi août/fin novembre chaque année, dans chacun des villages sentinelle à l'extérieur des cases.

RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

\*Pas de calcul du TIE en 1998

- Enquêtes transversales

Les taux d'inoculation entomologique obtenus lors des enquêtes transversales au moment du pic de la transmission sont présentés dans le tableau 11.

Dans la zone ayant reçu les RII en 1994, nous observons que le nombre de piqûres infectées reçues par homme dans le mois à l'intérieur des cases était toujours inférieur à 1 ; il était de 6 à 18 fois plus élevé à l'extérieur des cases.

Dans la zone ayant reçu les RII en 1996, les TIE à l'intérieur des cases étaient aussi toujours inférieurs à 1. A l'extérieur des cases de cette zone, nous n'avons pas pu collecter les données, par manque de matériel.

Dans les 8 villages hors zone, les TIE étaient très élevés de 5,3 à 32,6 à l'intérieur des cases et de 12,8 à 61,0 à l'extérieur des cases. En 1997, les TIE étaient les plus faibles et en 1999 les plus forts. La transmission mesurée avec les pièges lumineux à l'extérieur était toujours supérieure à celle mesurée avec les captures à l'aide d'un insecticide pulvérisé à l'intérieur des cases (sauf en 1996).

De façon générale, les TIE étaient toujours beaucoup plus faibles dans la zone d'intervention que dans les villages hors zone, aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des cases, montrant ainsi l'impact des RII sur la transmission.

#### *4.2.2.4 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur la dynamique de la transmission*

Suite aux données obtenues précédemment, qui montraient le très fort impact des RII sur l'agressivité d'*An. gambiae s.l.*, sur le taux sporozoïtique et par conséquent sur le taux d'inoculation entomologique dû à ce vecteur, nous nous sommes demandés si les RII n'avaient pas un impact sur la durée de la transmission. En effet, on pourrait s'attendre à une saison de transmission écourtée, qui commencerait plus tard et finirait plus tôt.

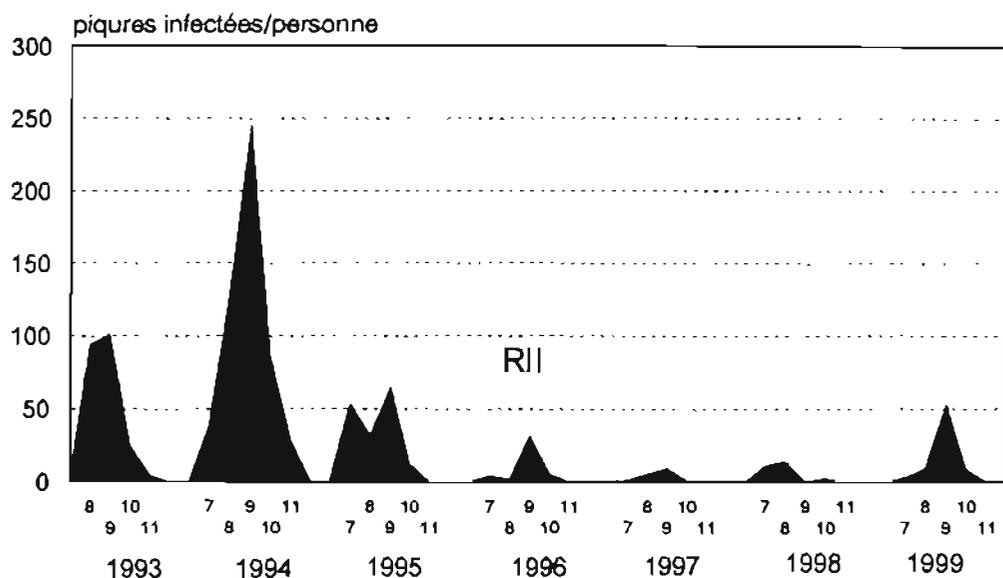
**Tableau 11:** Taux d'Inoculation Entomologique de *An. gambiae s.l.* à l'intérieur et à l'extérieur des cases pour le mois de septembre (enquêtes transversales) de 1995 à 1999

Source		1995	1996	1997	1998	1999
Zone avec RII depuis 1994	Pièges CDC dehors	5,1	5,2	2,3	3,5	10,6
	Captures au pyrèthre dedans	0,9	0,5	0,2	0,2	0,7
Zone avec RII depuis 1996	Pièges CDC dehors	25,3*	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
	Captures au pyrèthre dedans	22,0*	0,3	0,2	0,4	0,7
8 villages hors zone	Pièges CDC dehors	n. d.	29,2	12,8	39,9	61,0
	Captures au pyrèthre dedans	n. d.	32,6	5,3	18,9	32,1
pluviométrie	mm d'eau	609	637	642	831	772

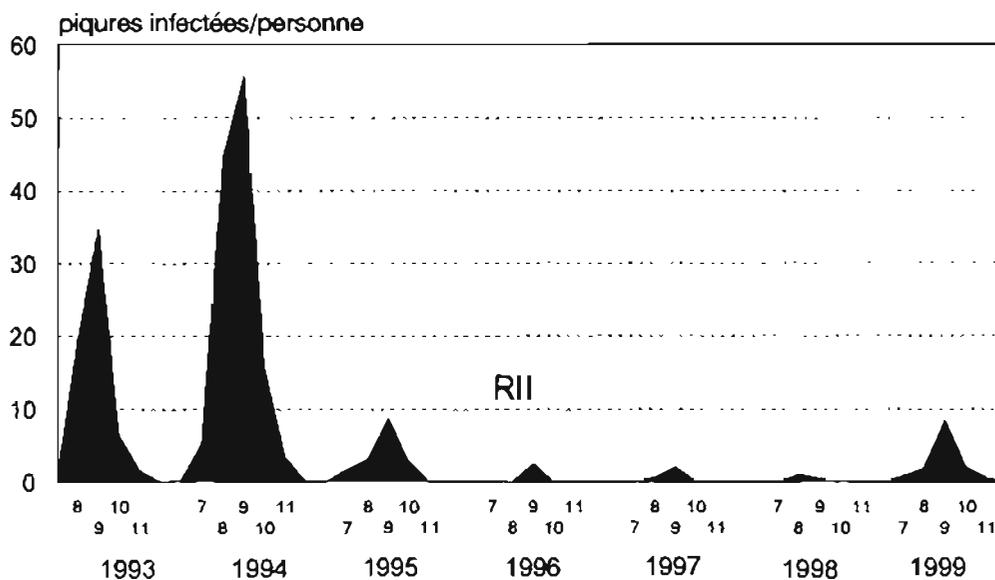
\*en 1995, les secteurs concernés n'avaient pas encore reçu les RII donc étaient considérés comme contrôle.  
n. d. = non disponible : Pour des raisons matérielles, les captures CDC n'étaient réalisées que dans 24 villages couverts depuis 1994 et, également dans les 8 villages hors zone à partir de 96.

Les données du suivi longitudinal dans les 4 villages sentinelle sur la dynamique de la transmission au cours des mois nous permet d'aborder cette question à travers les figures 17a, 17b, 17c et 17d.

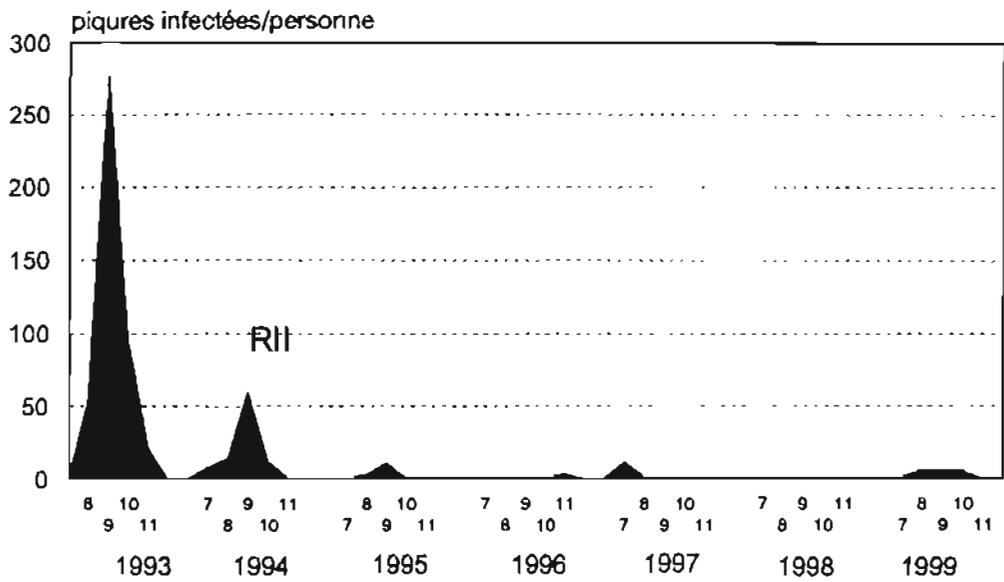
Dans les 4 villages sentinelle avant l'installation des RII, la transmission s'étalait, de manière générale de juillet à novembre avec un pic, toujours en septembre. A partir de l'installation des RII, nous observons une baisse considérable de la transmission avec toujours le pic en septembre dans les 4 villages ; cependant, l'installation des RII diminuait la durée de la transmission ; dans l'ensemble la transmission devenait nulle en novembre.



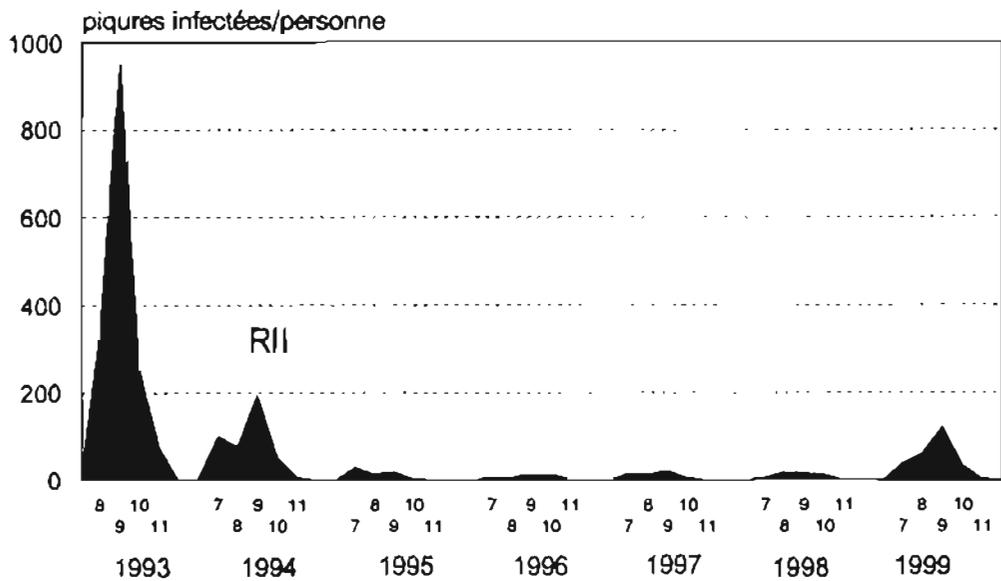
**Figure 17a :** Dynamique de la transmission du paludisme pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Nougou  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 17b :** Dynamique de la transmission du paludisme pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Watinoma  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 17c :** Dynamique de la transmission du paludisme pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Somnaway  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période



**Figure 17d :** Dynamique de la transmission du paludisme pendant les saisons des pluies 1993 à 1999 à Signoguen  
 RII indique que les rideaux imprégnés d'insecticide ont été installés à cette période

#### 4.2.3 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur le comportement de piqûre de *An. gambiae s.l.*

##### 4.2.3.1 *Lieux de piqûre (endophagie/exophagie)*

Les éventuels changements, au cours du temps, du comportement de *An. gambiae s.l.* pour la prise de son repas sanguin à l'intérieur ou à l'extérieur des cases étaient calculés chaque année dans les villages sentinelle, à partir du rapport entre la moyenne géométrique des densités vectorielles (agressivités) à l'intérieur des cases sans RII et celle de l'extérieur. Pour l'année de base (1993), ce rapport était de 2,3 ce qui prouvait que *An. gambiae s.l.* piquait plutôt à l'intérieur des cases (endophagie).

Nous pouvions nous attendre à ce que les moustiques restent plus dehors pour la prise de leur repas sanguin, après l'installation des RII, et donc que le rapport diminue ; de 1996 à 1999, ce rapport était de 2,2 ; 7,5 ; 6,0 et 2,4 respectivement (Tableau 12), ce qui indiquait qu'il n'y avait pas d'évidence d'une tendance à prendre le repas sanguin à l'extérieur des cases (exophagie). Cependant, l'amplitude des intervalles de confiance indique que la tendance à l'exophagie n'est pas exclue.

**Tableau 12** : Rapport entre les agressivités de *An gambiae s.l.* à l'intérieur des cases sans RII et celles à l'extérieur, en fonction des années

Année	Rapport	IC 95%
1993	2,3	0,8 – 3,8
1996	2,2	1,5 – 2,9
1997	7,5	0,0 – 20,1
1998	6,0	1,0 – 9,1
1999	2,4	1,6 – 3,2

#### 4.2.3.2 Rythme d'agressivité

Les résultats montrent qu'environ 20% des *An. gambiae s.l.* et 27% des *An. funestus s.l.* piquaient avant 22h dans nos villages d'étude avant l'installation des RII (Tableau 13).

Quand les villages ont reçu les RII, la proportion de *An. gambiae s.l.* capturé à l'intérieur des cases non protégées de 19h à 22h ne différait presque pas de celle observée dans les villages sans RII, : 20,7% et 20,9% (Tableau 13). A l'extérieur des cases, les proportions montraient des résultats similaires avec 20,6% dans les villages sans RII et 20,9% dans ceux avec RII.

La présence des RII n'a pas changé le comportement de piqûre de *An. gambiae s.l.* qui présente toujours son maximum d'activité dans la deuxième tranche horaire de nos captures.

Par contre pour *An. funestus s.l.*, les proportions capturées dans la première partie de la soirée diminuaient dans les villages protégés par les RII, passant de plus de 27% à moins de 17%.

**Tableau 13** : Proportions de *An. gambiae s.l.* et *An. funestus s.l.* capturées à l'intérieur des cases non protégées et à l'extérieur de 19h à 22h dans les villages sentinelle de 1993 à 1999 (sans 1998)

		villages sans RII (n capturés de 19 à 22h)	villages avec RII (n capturés de 19 à 22h)	Chi2 (P)
<i>An. gambiae s.l.</i>	Intérieur des cases	20,9% (4758)	20,7% (4544)	0,1 (0,78)
	Extérieur	20,6% (2152)	20,9% (1949)	0,4 (0,55)
<i>An. funestus s.l.</i>	Intérieur des cases	27,1% (1485)	14,4% (296)	132,4 (<0,001)
	Extérieur	28,0% (602)	16,6% (97)	31,3 (<0,001)

NB : les résultats ont été obtenus en prenant en compte les données des 4 villages en 1993 + les 2 villages non couverts en 1994 et 1995 pour la colonne "villages sans RII", et les données des 2 villages couverts en 1994 et 1995 + les 4 villages de 1996 à 1999 pour la colonne "villages avec RII".

#### 4.2.3.3 Anthropophilie de *An. gambiae s.l.*

La proportion de moustiques piquant l'homme était déterminée par l'analyse de l'origine de leur repas sanguin, grâce à la technique ELISA. Ces tests ont été réalisés à partir de 1996 lorsque toute la zone était couverte. Nous observons une tendance à la diminution de la proportion de *An. gambiae s.l.* gorgés sur homme au fil des années dans la zone protégée, comparativement aux villages non protégés situés à l'extérieur de la zone d'étude, où ces proportions fluctuaient d'une année à l'autre (Tableau 14).

Ces données suggèrent une possible diminution des proportions de moustiques se gorgeant sur homme dans la zone protégée par les RII.

**Tableau 14 :** Proportions de *An. gambiae s.l.* gorgés sur homme lors des enquêtes transversales de septembre

Année	Zone d'intervention % (95%IC) N	Hors zone % (95%IC) N	Chi2 (P)
1996	93 (89-96) 210	79 (77-81) 1966	23,1 ( <b>&lt;0,001</b> )
1997	83 (78-86) 359	96 (94-97) 563	44,1 ( <b>&lt;0,001</b> )
1998	77 (74-80) 659	78 (77-80) 2466	2,1 (0,15)
1999	77 (74-79) 1200	80 (79-82) 1952	4,1 ( <b>0,04</b> )

N = nombre de moustiques

#### 4.2.4 Influence de la position des villages sur les paramètres de la transmission

Le tableau 15 présente les agressivités et les indices sporozoïtiques obtenus à partir des captures effectuées à l'aide de pièges lumineux CDC à l'extérieur des cases lors des enquêtes transversales. Ces valeurs sont exprimées selon la position des villages dans la zone protégée par les RII et en dehors de cette zone protégée.

Avec la couverture totale de la zone à partir de 1996, nous observons que les valeurs de ces paramètres étaient toujours plus faibles à l'intérieur qu'à la périphérie où elles étaient aussi plus faibles que celles enregistrées à l'extérieur de la zone d'intervention.

Ces données suggèrent qu'à l'extérieur des cases, les personnes résidant dans des villages situés au cœur de la zone d'intervention étaient mieux protégées que celles vivant dans des villages situés à la périphérie de cette zone qui, à leur tour, avaient un certain degré de protection par rapport aux habitants des villages situés à l'extérieur de la zone couverte par les RII. Cette suggestion était confortée par les résultats de l'année 1995, qui montraient que, à l'intérieur de la zone non protégée constituée par les 8 secteurs n'ayant pas reçu les RII en 94, les agressivités et les taux sporozoïtiques moyens dans les villages situés au centre étaient plus élevés que ceux des villages situés à la périphérie (Tableau 15).

**Tableau 15 :** Influence de la position du village dans la zone d'intervention sur certains paramètres de la transmission estimés à partir des captures CDC à l'extérieur des cases lors des enquêtes transversales.

	à l'intérieur de la zone intervention		à la périphérie de la zone intervention		A l'extérieur de la zone intervention		P* P**	
	Agressivité	IS	Agressivité	IS	Agressivité	IS		
1995*	valeur du paramètre	6,4	15,4%	2,0	6,0%	n. d.	n. d.	0,05 0,74
	nb de villages	24	8	19	5			
1996	valeur du paramètre	1,4	8,6%	2,1	10,4%	6,6	15,4%	0,03 0,17
	nb de villages	12	11	12	11	8	8	
1997	valeur du paramètre	0,7	3,4%	1,9	3,5%	5,4	11,2%	0,10 0,06
	nb de villages	12	8	12	9	8	6	
1998	valeur du paramètre	1,4	2,1%	2,2	8,5%	14,3	12,3%	<0,01 <0,01
	nb de villages	12	8	12	12	8	7	
1999	valeur du paramètre	8,8	2,8%	9,0	7,0%	24,6	8,7%	0,06 0,02
	nb de villages	12	12	12	12	8	8	

\* Pour 1995, seuls les villages qui n'avaient pas reçu les RII étaient inclus dans l'analyse

n. d. = non disponible car c'est à partir de 1996, alors que toute la zone était couverte, que nous avons choisi des villages en dehors de la zone comme contrôle.

P\* = P pour l'agressivité,

P\*\* = P pour l'indice sporozoïtique.

#### 4.2.5 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur la distribution des espèces

##### 4.2.5.1 *Distribution spatiale des espèces de moustiques avant et après l'installation des rideaux imprégnés d'insecticide.*

- Echantillonnage après pulvérisation d'un insecticide dans les cases lors des enquêtes transversales

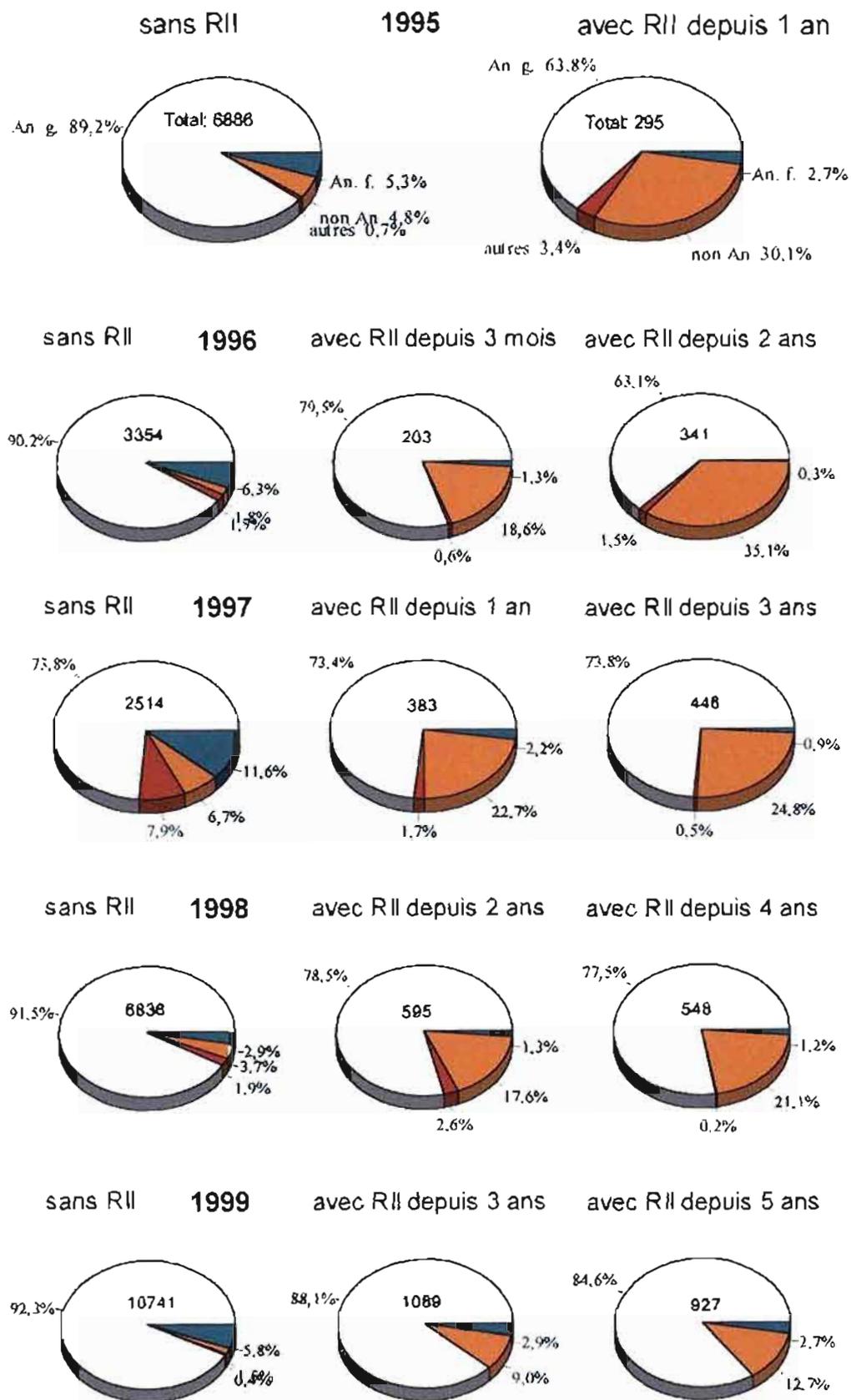
Lors de l'échantillonnage après pulvérisation d'un insecticide dans les cases (enquêtes transversales), nous observons que l'espèce *An. gambiae s.l.* était la plus représentée avant l'installation des RII et que, de façon générale, la proportion de cette espèce dans les cases diminuait dans les zones avec RII, alors que celle des non anophèles augmentait (figure 18). C'est ainsi qu'en 1995, alors que seulement la moitié de la zone était couverte, la proportion de *An. gambiae s.l.* était statistiquement plus élevée dans la zone contrôle sans RII que dans celle ayant reçu les RII un an auparavant ( $P < 0,01$ ;  $t = 3,3$ ). En 1996, où la totalité de la zone était couverte, nous avons identifié 8 villages en dehors de la zone d'étude pour les besoins de contrôle et nous observons que la proportion de *An. gambiae s.l.* dans ces villages était plus forte que celle de la zone qui avait reçu les RII 3 mois auparavant (ancienne zone contrôle). Cette dernière zone présentait une proportion de *An. gambiae s.l.* plus élevée que celle de la zone couverte depuis 2 ans. Cependant, les différences observées n'étaient pas statistiquement significatives. La diminution de cet impact avec le temps semblait se confirmer au cours des années suivantes 1997 à 1999.

- Echantillonnage à l'aide de pièges lumineux CDC lors des enquêtes transversales

Effectuées à l'extérieur des cases pour donner une idée de la population vectorielle circulante, ces captures montraient que dans les villages couverts par les RII, la proportion de

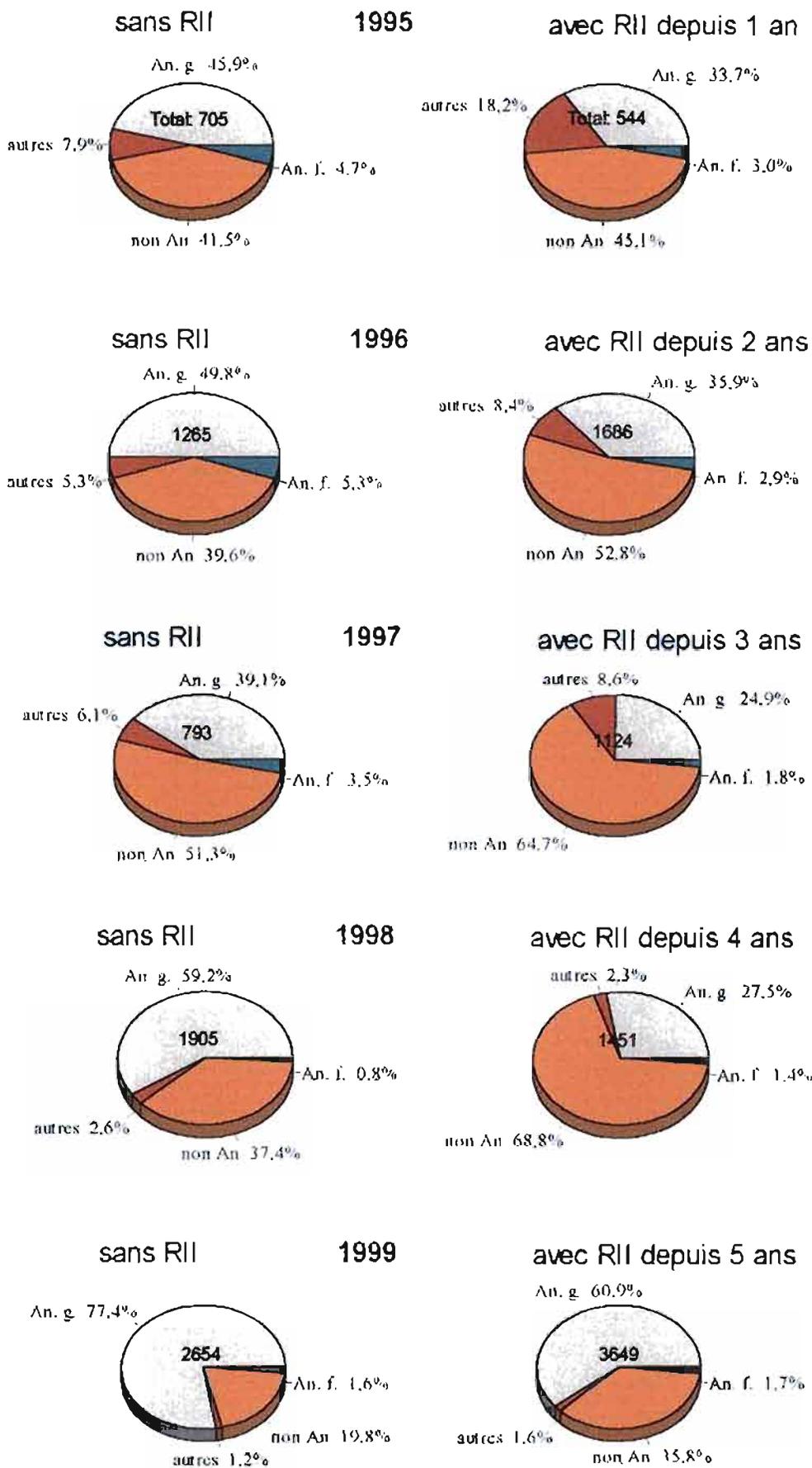
*An. gambiae s.l.* était toujours plus faible et celle des non anophèles plus élevée que dans la zone non couverte, mais les différences n'étaient pas statistiquement significatives (Figure 19).

Nous remarquons que, comparativement à la précédente méthode d'échantillonnage (capture après pulvérisation d'un insecticide), les proportions d' *An. gambiae s.l.* étaient plus faibles lors des captures à l'aide des pièges lumineux CDC (60-90% contre 30-80%). Par contre, le phénomène de remontée progressive de la proportion des *An. gambiae s.l.* est moins marqué que précédemment.



**Figure 18** : Distribution spatiale des différentes espèces de moustiques à l'intérieur des cases avant et après installation des RII lors des enquêtes transversales.

Sans RII : le total des moustiques a été capturé dans 44 villages en 1995 et dans 8 villages de 1996 à 1999. Avec RII : le total des moustiques a été capturé dans 40 villages en 1995 et dans 24 villages pour chaque camembert de 1996 à 1999



**Figure 19** : Distribution spatiale des différentes espèces de moustiques à l'extérieur des cases avant et après installation des RII lors des enquêtes transversales.

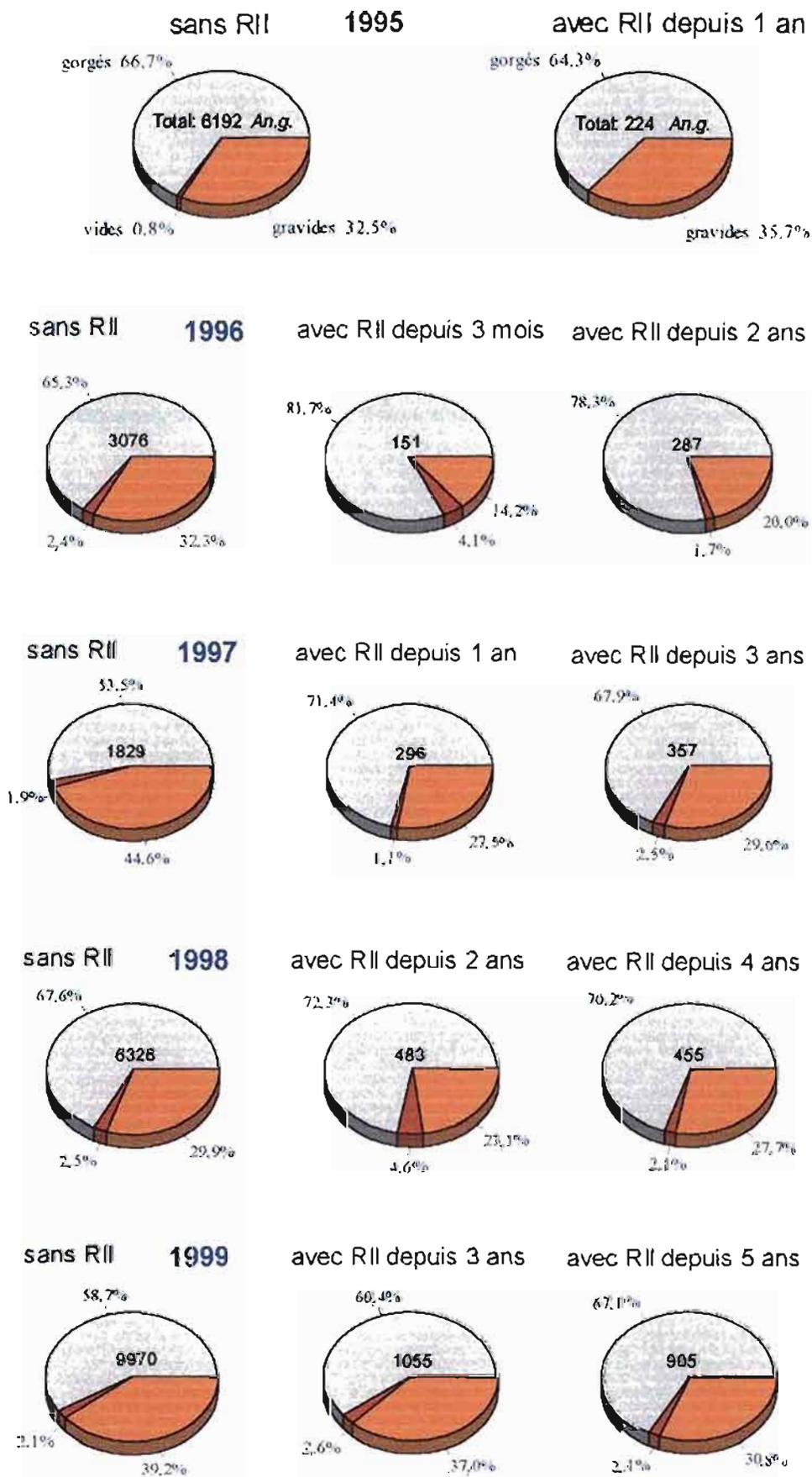
Sans RII concerne 44 villages en 1995 et 8 villages de 1996 à 1999. Avec RII concerne 40 villages en 1995 et 24 villages de 1996 à 1999.

#### *4.2.5.2 Distribution de An. gambiae s.l. selon l'état de réplétion des femelles*

Avant la couverture totale des 158 villages d'étude par les RII, la proportion des femelles gorgées capturées après pulvérisation d'insecticide dans les cases de la zone contrôle en 1995 était sensiblement la même (66,7%) que celle déterminée dans la zone intervention (64,3%) (figure 20).

A partir de 1996 où toute la zone a été couverte, nous constatons que la proportion des femelles gorgées dans les villages ayant reçu les RII en 1996 était plus élevée que dans ceux ayant été couverts en 1994 ; cependant, chacune de ces proportions (dans village couverts en 1996 et 1994) restait plus élevée que celles observées dans les 8 villages hors zone. Les différences n'étaient jamais statistiquement significatives.

En d'autres termes, la proportion des femelles gorgées dans les cases semblait augmenter avec l'intervention, en particulier dès que toute la zone a été couverte en 1996, mais au fil des années la différence avec la proportion trouvée à l'extérieur de la zone s'atténuait.



**Figure 20 :** Distribution des différents stades de réplétion de *An. gambiae s.l.* avant et après installation des RII dans la zone d'étude en comparaison avec la partie hors zone.

Sans RII concerne 44 villages en 1995 et 8 villages de 1996 à 1999. Avec RII concerne 40 villages en 1995 et 24 villages par camembert de 1996 à 1999.

#### 4.2.5.3 Distribution spécifique de *An. gambiae* s.l.

Le tableau 16 présente les résultats de l'identification spécifique de *An. gambiae* s.l. lors des enquêtes transversales des années 1998 et 1999 (échantillonnages à l'aide de pièges lumineux CDC et après pulvérisation d'un insecticide). Pour augmenter la chance de voir un éventuel impact des RII sur la distribution spécifique de *An. gambiae* s.l., nous avons choisi de travailler sur des moustiques capturés au cœur de la zone d'intervention comparativement à ceux provenant des villages non protégés.

En 1998, la proportion de *An. gambiae* s.s. était plus élevée au cœur de la zone d'intervention que celle de *An. arabiensis*, que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur des cases. Dans les villages hors zone, cette proportion était inférieure ou égale à celle de *An. arabiensis*. Malgré le faible nombre de moustiques sur lesquels nous avons obtenu de résultat (163 au total), la différence entre les deux zones était toujours statistiquement significative (Tableau 16).

En 1999, nous avons pu obtenir des résultats sur 825 moustiques. Les mêmes tendances que celles de 1998 étaient observées même si nous devons noter en dehors de la zone d'étude, une plus forte proportion de *An. gambiae* s.s. à l'intérieur des cases et une plus forte proportion de *An. arabiensis* à l'extérieur des cases, les différences n'étant pas significatives (Tableau 16).

Ces résultats suggèrent une sensibilité sélective des 2 espèces à la perméthrine. En effet, la proportion de *An. arabiensis* était toujours plus faible dans la zone protégée par les RII qu'en dehors de cette zone. Par conséquent, *An. arabiensis* paraît être plus sensible à la perméthrine que *An. gambiae* s.s..

Nous avons noté que les proportions des différentes espèces variaient d'une année à l'autre.

De façon générale, au cours des deux années d'observation de la distribution des deux espèces, nous constatons que la proportion de *An. gambiae s.s.* était toujours significativement plus élevée à l'intérieur des cases qu'à l'extérieur, et celle des *An. arabiensis* toujours significativement plus élevée à l'extérieur qu'à l'intérieur des cases (tableaux 16 et 17). *An. gambiae s.s.* serait donc plus endophile/endophage et *An. arabiensis* plus exophage. Cette observation est indépendante de l'intervention et semble donc indiquer un comportement naturel de ces 2 espèces.

Plus de 90% des *An. gambiae s.s.* identifiés lors des échantillonnages de 1999 appartenait à la forme chromosomique Mopti (Tableau 18). Pour ce qui concerne la forme chromosomique, Il n'y avait pas de différence entre les moustiques provenant des villages avec RII et ceux des villages sans RII, et pas de différence entre l'intérieur et l'extérieur des cases.

**Tableau 16** : Distribution spécifique de *An. gambiae s.l.* au cœur de la zone d'intervention et en dehors de cette zone

Année	Espèce	Intérieur des cases		Extérieur des cases	
		RII +	RII -	RII +	RII -
1998	GA	74,4 %	50,0 %	55,9 %	26,3 %
	A	25,6 %	50,0 %	44,1 %	73,7 %
	N	78	32	34	19
	chi <sup>2</sup> (P)	6,1 (0,01)		4,3 (0,04)	
1999	GA	69,1 %	55,7 %	50,9 %	43,7 %
	AR	30,9 %	44,3 %	49,1 %	56,3 %
	N	191	192	220	222
	chi <sup>2</sup> (P)	7,3 (<0,01)		2,3 (0,13)	

NB: L'analyse est basée sur l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence dans la distribution des espèces entre la zone avec RII et la zone sans RII.

RII + ou - : zone avec RII ou zone sans RII - N: nombre total testé - GA: *An. gambiae s.s.* - AR: *An. arabiensis*

**Tableau 17** : Distribution spécifique de *An. gambiae s.l.* toute zone confondue, à l'intérieur et à l'extérieur des cases par année.

Espèce	1998		1999	
	Intérieur	Extérieur	Intérieur	Extérieur
GA	67,3 %	45,3 %	62,4 %	47,3 %
AR	32,7 %	54,7 %	37,6 %	52,7 %
N	110	53	383	442
chi <sup>2</sup> (P)	7,2 (< 0,01)		18,9 (< 0,001)	

NB: L'analyse est basée sur l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence dans la distribution des espèces à l'intérieur et à l'extérieur des cases. RII + ou - : zone avec RII ou zone sans RII - N: nombre total testé - GA: *An. gambiae s.s.* - AR: *An. arabiensis*

**Tableau 18 :** Distribution des formes chromosomiques de *An. gambiae s.s.* au cœur de la zone d'intervention et en dehors de cette zone.

Forme chro.	Intérieur des cases		Extérieur des cases	
	RII +	RII -	RII +	RII -
<b>MO</b>	93,2 %	93,1 %	91,1 %	93,5 %
<b>SA</b>	6,8 %	6,9 %	8,9 %	6,5 %
N	117	102	112	92
Chi2 (P)	0,0 (0,99)		0,4 (0,53)	

NB: L'analyse est basée sur l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence pour les formes chromosomiques entre la zone avec RII et la zone sans RII.

RII + ou - : zone avec RII ou zone sans RII - N: nombre total testé - MO: *An. gambiae s.s.* Mopti- SA: *An. gambiae s.s.* Savanna

#### 4.2.5.4 Relation entre espèces (*An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*) et degré d'infection

A partir de ce chapitre, les résultats concernent seulement l'année 1999, les données de 1998 étant trop peu pour permettre une analyse.

Quel que soit le type de capture (pyréthre à l'intérieur des cases, pièges CDC à l'extérieur), *An. gambiae s.s.* hébergeait plus souvent des parasites que *An. arabiensis* (tableau 19). En effet, dans les villages sans RII, les proportions de *An. gambiae s.s.* hébergeant *P. falciparum* s'élevaient à 12,4% (12 positifs sur un total de 97 testés) à l'extérieur des cases et 8,4% (9 positifs sur 107) à l'intérieur.; chez *An. arabiensis*, ces proportions étaient de 4,0% (5 positifs sur 125) et 2,4% (2 positifs sur 85) respectivement. Dans les villages avec RII, un seul moustique sur un total testé de 223 était trouvé positif lors des captures faites à l'extérieur des cases ; il s'agissait de *An. arabiensis*. Avec les captures

après pulvérisation d'un insecticide à l'intérieur des cases, 6,8% (9 positifs sur 132) des *An. gambiae* s.s. étaient positifs contre 5,1% (3 positif sur 59) des *An. arabiensis*.

Pour une espèce donnée, il n'y a pas de différence statistiquement significative dans la distribution de l'infection à l'intérieur et à l'extérieur des cases c'est à dire entre les deux types de capture pour *An. gambiae* s.s. (Chi<sup>2</sup>= 0,9 - P=0,35) et pour *An. arabiensis* (Chi<sup>2</sup>=0,4 - P=0,70).

En mettant ensemble toutes les données des deux zones -RII et +RII, et des deux types/lieux de capture, nous observons une différence statistiquement significative entre la proportion de *An. gambiae* s.s. porteur de *Plasmodium falciparum* et celle de *An. arabiensis* (chi<sup>2</sup>=6,1 – P= 0,01).

Ces résultats indiquent que *An. gambiae* s.s. est un meilleur vecteur de *Plasmodium falciparum* que *An. arabiensis*.

**Tableau 19** : proportion de moustiques porteurs de *P. falciparum* au cœur et en dehors de la zone intervention selon le type/lieu de capture

Espèce	Intérieur des cases			Extérieur des cases		
	RII+	RII-	Chi <sup>2</sup> (P)	RII+	RII-	Chi <sup>2</sup> (P)
<b>GA</b>	6,8 %	8,4 %	0,2	0 %	12,4 %	14,7
(N)	(132)	(107)		(112)	(97)	(<0,001)
<b>AR</b>	5,1 %	2,4 %	0,8	0,9 %	4,0 %	2,2
(N)	(59)	(85)	(0,48)	(107)	(125)	(0,22)
<b>Chi<sup>2</sup> (P)</b>	0,2 (0,76)	3,2 (0,12)		1,1 (0,49)	5,4 (0,02)	

NB: L'analyse est basée sur l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence pour les espèces dans la zone RII et pas de différence dans la zone sans RII (analyse verticale), et qu'il n'y a pas de différence pour une même espèce entre les deux zones (analyse horizontale).

RII + ou -: zone avec RII ou zone sans RII - (N): nombre total testé - GA: *An. gambiae* s.s. - AR: *An. arabiensis*

#### 4.2.5.5 Relation entre espèces (*An. gambiae* s.s., *An. arabiensis*) et degré d'anthropophilie.

Cette étude a concerné seulement les femelles gorgées, capturées à l'intérieur des cases, dans les villages avec RII situés au cœur de la zone d'intervention et dans les villages sans RII situés en dehors de la zone d'intervention.

Parmi les moustiques capturés dans la zone protégée par les RII, 93,8% des *An. gambiae* s.s. et 76,6% des *An. arabiensis* étaient gorgés sur homme ( $\chi^2=10,5$  -  $P=0,001$ ) (tableau 20). Par contre, hors de la zone protégée, les proportions étaient très proches, 82,9% contre 79,8% respectivement ( $\chi^2=0,3$  -  $P=0,59$ ).

Les moustiques qui ne s'étaient pas gorgés sur homme, c'est à dire les négatifs obtenus lors du test ELISA pour le repas sanguin humain, ont été testés en présence d'un conjugué anti-bovin. 52,2% des *An. arabiensis* dans la zone avec RII et 27,3% dans les villages sans RII s'étaient gorgés sur bovin et 33,3% et 10,0% respectivement des *An. gambiae* s.s. (tableau 20).

*An. gambiae* s.s. était significativement plus anthropophile au centre de la zone protégée par les RII qu'en dehors de cette zone ( $\chi^2= 6,9$  -  $P < 0,01$ ) ; par contre, l'anthropophilie de *An. arabiensis* au centre de la zone protégée était comparable à celle de la zone non protégée ( $\chi^2= 0,2$  -  $P = 0,68$ ).

Ces résultats montraient que dans les conditions naturelles sans pression insecticide, les 2 espèces étaient anthropophiles (80%), mais *An. arabiensis* non gorgé sur homme, avait tendance à prendre 3 fois plus souvent ses repas sur bovins que *An. gambiae* s.s.. Sous pression insecticide, les deux espèces semblaient augmenter leur prise de repas sanguin sur bovins.

**Tableau 20** : Indice d'anthropophilie (IA) et indice de zoophilie (IZ) au cœur et en dehors de la zone d'intervention.

Espèce	Indice d'anthropophilie			Indice de zoophilie		
	RII+	RII-	Chi2 (P)	RII+	RII-	Chi2 (P)
<b>GA</b>	93,8 %	82,9 %	6,9	33,3 %	10,0 %	2,7
(N)	(128)	(105)	(0,01)	(12)	(20)	(0,10)
<b>AR</b>	76,6 %	79,8 %	0,2	52,2 %	27,3 %	2,9
(N)	(47)	(79)	(0,68)	(23)	(22)	(0,09)
Chi2 (P)	10,5 (0,001)	0,3 (0,59)		1,1 (0,48)	2,0 (0,24)	

NB : L'analyse est basée sur l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence pour les espèces dans la zone RII et pas de différence dans la zone sans RII (analyse verticale), et qu'il n'y a pas de différence pour une même espèce entre les deux zones (analyse horizontale).

RII + ou - : zone avec RII ou zone sans RII - (N): nombre total testé - GA: *An. gambiae s.s.* - AR: *An. arabiensis*

En résumé, *An. gambiae s.s.* est plus endophile et est représenté à plus de 90% par la forme chromosomique Mopti, sans aucun impact des RII sur ce paramètre. Son indice sporozoïtique est plus élevé que celui de *An. arabiensis* et sous l'action des RII, il a tendance à augmenter sa prise de repas sanguin sur bovin.

La perméthrine semble plus efficace sur *An. arabiensis* même si cette espèce est moins bonne vectrice de *Plasmodium falciparum* et semble moins anthropophile que *An. gambiae s.s.*

## **5. DISCUSSION**

#### 4.2.6 Efficacité et rémanence de l'insecticide sur les rideaux

Les résultats des bio-essais, obtenus depuis le début de l'intervention jusqu'à nos jours montrent que les rideaux imprégnés de perméthrine étaient efficaces contre *An. gambiae s.l.* et que cette efficacité se maintenait pendant au moins 8 mois après l'imprégnation. A partir de 1996 où tous les villages des 16 secteurs de la zone d'étude étaient couverts, les bio-essais réalisés deux fois par an donnaient des taux de mortalité corrigée toujours supérieurs à 90% ; en effet, en octobre 1996, février et octobre 1997, les taux de mortalité corrigée s'élevaient à 99,0%, 94,9% et 98,5% respectivement. Les tests de l'année 1998 donnaient 93,5% et 98,5% en février et octobre et ceux de 1999, respectivement 96,5% et 99,5%.

## 5.1 Dynamique de la population vectorielle dans les deux villages sentinelle de la zone témoin

Les vecteurs majeurs du paludisme en Afrique tropicale sont *An. gambiae s.l.* et *An. funestus s.l.* (Hamon *et al.*, 1966 ; Robert *et al.*, 1985,1988 ; Rossi *et al.*, 1986 ; Dossou-Yovo *et al.*, 1994). *An. funestus s.l.* joue un rôle très important dans la transmission du paludisme en saison sèche dans certaines zones rurales (Rossi *et al.*, 1986). Robert et coll. (1988) notent d'ailleurs lors d'une étude longitudinale conduite dans un village du sud - ouest du Burkina Faso que *An. gambiae s.l.* a une densité maximale au milieu de la saison des pluies, et que ce maximum précède de deux mois celui de *An. funestus s.l.*. Darriet et coll. (1984), ont également observé une alternance de ces vecteurs, avec *An. gambiae s.l.* plus abondant que *An. funestus s.l.* en début de saison pluvieuse et *An. funestus s.l.* plus abondant que *An. gambiae s.l.* à partir de septembre. Nos observations faites dans le village de Nougou où de fortes densités de *An. funestus s.l.* sont observées en année de base, confirment le rôle que cette espèce peut jouer dans la persistance de la transmission du paludisme en saison sèche, en se substituant à *An. gambiae s.l.*, comme le constatent Gillies et De Meillon (1968).

Dans une zone rizicole du Kenya, Githeko et coll. (1996) notent que *An. arabiensis* est abondant lorsque le riz est immature et *An. funestus s.l.* lorsqu'il est mûr, de sorte que la transmission peut se maintenir toute l'année. Dans la région sucrière du même pays, *An. gambiae s.l.* pullule pendant la saison des pluies (Githeko *et al.*, 1996). Toutes ces données concordent avec les nôtres et sont associées à l'existence ou non de gîtes préférentiels de ces espèces.

La disparition progressive de *An. funestus s.l.* à l'intérieur et à l'extérieur des cases au cours des années suggère une disparition progressive des gîtes favorables au développement de cette espèce. En effet, cette espèce, qui prend en général le relais de *An. gambiae s.l.* dans la transmission du paludisme, se développe dans des eaux profondes et ombragées, à caractère permanent et semi - permanent. Ce type de gîte était souvent rencontré dans le village de

Noungou, où les habitants creusaient de nombreux puits peu profonds dans le lit du barrage pour arroser leurs jardins potagers. Avec le développement des systèmes d'irrigation à l'aide de pompes, ce type de gîte est devenu moins fréquent, ce qui pourrait expliquer la diminution de la densité de *An. funestus s.l.* dans ce village. L'inexistence presque totale de *An. funestus s.l.* à Watinoma se justifie par l'absence de gîtes favorables à son développement. Ce village étant très sec, le développement des gîtes larvaires est uniquement tributaire des pluies.

La dynamique mensuelle de la population vectorielle à l'intérieur et à l'extérieur des cases de ces villages avant l'intervention montre que *An. gambiae s.l.* est plus rencontré à l'intérieur qu'à l'extérieur des cases, ce qui suggère que cette espèce est plus endophage qu'exophage dans nos villages d'études. Les observations faites dans les autres villages et plus particulièrement à Noungou où les densités de *An. funestus s.l.* étaient les plus élevées nous permettent également d'affirmer que *An. funestus s.l.* est plus endophage qu'exophage.

## **5.2 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres de la transmission**

### **5.2.1 Agressivité de *Anopheles gambiae s.l.***

Nos résultats ont montré une forte réduction de l'agressivité de *An. gambiae s.l.*, aussi bien dans les villages sentinelle que dans la grande zone du projet suite à l'introduction des RII. Ils sont concordants avec ceux de Majori et coll (1987b) qui avaient trouvé, dans deux villages proches de Ouagadougou, des réductions des agressivités de *An. gambiae s.l.* de plus de 98% à l'intérieur des cases trois mois après l'imprégnation et de plus de 54% onze mois plus tard. Cependant, les agressivités qu'ils ont mesurées à l'extérieur des cases restaient constamment élevées, montrant ainsi l'absence de protection lorsque l'on se trouve à l'extérieur des cases (Majori *et al.*, 1987b). Ce résultat serait lié à l'effet de ré-invasion par des moustiques de villages voisins, étant donné que chacun des villages protégés était situé au milieu d'autres villages sans protection. Dans notre étude, la réduction des agressivités

vectérielles que nous avons observée à l'intérieur des cases non protégées et à l'extérieur serait associée à l'étendue de la couverture (158 villages) minimisant ainsi les effets de ré-invasion, au moins dans les villages situés au centre de la zone protégée. D'autres études faites en Afrique à plus ou moins petite échelle, avec des moustiquaires ou des rideaux imprégnés, dans des cases expérimentales (Darriet *et al.*, 1984 ; Lines *et al.*, 1985) ou au niveau de villages, à plus ou moins courte durée, (Ranque *et al.*, 1984 ; Graves *et al.*, 1987 ; Snow *et al.*, 1987a ; Carnevale *et al.*, 1988 ; Doumbo *et al.*, 1991 ; Magesa *et al.*, 1991 ; Karch *et al.*, 1993) ont enregistré des réductions des densités agressives de 50 à plus de 98% à l'intérieur ou à l'extérieur des cases protégées.

En Gambie, Quinones et coll. (1997 ; 1998) n'avaient observé aucun impact des moustiquaires imprégnées de perméthrine sur les densités vectorielles quoiqu'une réduction substantielle de la fraction des moustiques endophiles, probablement liée à l'effet excito - répulsif de l'insecticide, ait été observée. Ces résultats, contraires à ceux observés dans notre étude sont probablement liés soit à la faible couverture (10 villages traités et 10 contrôles), soit à la différence du matériel imprégné, la moustiquaire imprégnée ne protégeant que ceux qui l'utilisent dans la case, alors que les rideaux empêchent les moustiques d'entrer dans la case et donc protègent tous ceux qui s'y trouvent.

Des résultats intermédiaires ont été observés par Magbity et coll. (1997) en Sierra Leone où une très faible réduction des densités de *An. gambiae s.l.* a été observée.

Dans notre étude, nous constatons une remontée de l'agressivité vectorielle de *An. gambiae s.l.* à l'intérieur et à l'extérieur des cases en 1999 ; nous ne pouvons pas exclure l'apparition d'une résistance du vecteur à l'insecticide utilisé, cependant, dans les villages non protégés par les RII, le phénomène a également été observé ; si les RII étaient devenus moins efficaces que les années précédentes, nous nous attendrions aussi à ce que les indices sporozoïtiques dans les villages protégés rejoignent les valeurs de ceux des villages sans RII ;

or ces indices sont restés faibles et stables jusqu'en 1999, ce qui suggère que les RII continuent à tuer les moustiques avant qu'ils n'atteignent l'âge infectieux. Cette remontée de l'agressivité vectorielle ne peut pas non plus être expliquée par une pluviométrie plus abondante en 1999 puisque les relevés pluviométriques de l'année 1999 indiquent des pluies un peu moins abondantes qu'en 1998 (772 mm contre 831 mm respectivement). La distribution des pluies dans le temps a dû être plus favorable à la prolifération de gîtes propices au développement de *An. gambiae s.l.* en 1999.

### 5.2.2 Taux d'infection de *Anopheles gambiae s.l.*

Nos résultats de l'impact des RII sur l'indice sporozoïtique sont comparables à ceux enregistrés en 1991 en Tanzanie par Magesa et coll.. D'autres études sur les matériaux imprégnés d'insecticide n'ont rapporté aucun impact de la mesure sur le taux sporozoïtique des vecteurs (Karch *et al.*, 1993 ; Thomson *et al.*, 1995 ; Quinones *et al.*, 1997, 1998 ).

La forte réduction des indices sporozoïtiques après l'installation des RII, sur les trois derniers mois de la saison pluvieuse, alors qu'ils étaient fortement élevés avant l'introduction de la mesure, suggère que les RII réduisent la proportion des femelles atteignant l'âge épidémiologiquement dangereux .

Les taux sporozoïtiques plus élevés que nous avons observés à l'extérieur des cases comparativement à ceux enregistrés à l'intérieur, dans la zone avec ou sans RII lors des enquêtes transversales seraient plutôt dus à la méthode d'échantillonnage et non au lieu de collecte des moustiques ; en effet, à l'extérieur des cases, des femelles en pleine activité de piqure sont capturées à l'aide de pièges lumineux CDC tandis qu'à l'intérieur, ce sont des femelles au repos qui sont collectées après pulvérisation d'un insecticide à base de pyrèthre. Dans les villages sentinelle où nous utilisons les pièges lumineux à l'intérieur et à l'extérieur des cases pour la collecte des moustiques, nous n'avons pas observé de différence dans

l'indice sporozoïtique (Cuzin-Ouattara, communication personnelle). C'est d'ailleurs pour cette raison que nous avons procédé à la détermination d'un indice unique par village qui prend en compte les moustiques capturés à l'intérieur et à l'extérieur des cases.

La détermination des paramètres entomologiques pose toujours des problèmes de méthode et d'échantillonnage. Chaque méthode de capture, présentant ses qualités et ses défauts, influence les résultats en ne fournissant qu'une fraction sélectionnée de la population vectorielle à étudier. Dans notre site d'étude, les indices sporozoïtiques calculés à partir des récoltes de moustiques à l'aide de pièges lumineux CDC étaient plus élevés que ceux obtenus sur les échantillons pris après pulvérisation d'un insecticide à base de pyrèthre. Aucune étude à notre connaissance ne compare les deux méthodes d'échantillonnage que nous avons utilisées. Les seules études de comparaison que nous connaissons concernent la capture à l'aide de piège lumineux CDC et la capture nocturne sur homme des femelles en activité ou la capture manuelle matinale des femelles au repos dans les cases (Coz *et al.* 1971 ; Carnevale et Le Pont, 1973 ; Costantini *et al.*, 1998).

Rappelons que dans le cas des captures après pulvérisation de pyrèthre, nous n'avons testé que les femelles gorgées qui représentent environ 68% des femelles capturées ; peut-être que si nous avions testé aussi les gravides qui représentent environ 30% des femelles capturées de même que les femelles à jeun (environ 2%), nous aurions eu des résultats différents de ceux obtenus. Une investigation plus poussée sur ces deux méthodes d'échantillonnage serait donc importante à mettre en oeuvre pour essayer d'expliquer notre résultat. Pour l'instant, nous n'avons pas d'explication au fait que l'indice sporozoïtique soit plus élevé lors des captures à l'aide de pièges lumineux CDC que lors des captures après pulvérisation d'un insecticide à base de pyrèthre.

### 5.2.3 Taux d'inoculation entomologique de *Anopheles gambiae* s.l.

Le niveau de transmission dans une zone étant exprimé par le produit entre l'agressivité et l'indice sporozoïtique, un impact des RII sur ces deux paramètres entraîne un impact sur le taux d'inoculation entomologique (TIE). Les valeurs des TIE à l'intérieur et à l'extérieur des cases de la zone protégée, concordent avec celles des indices sporozoïtiques et devraient donc être liées aux méthodes d'échantillonnage. Les fluctuations du TIE observées en dehors de la zone protégée seraient liées à des variations de l'agressivité des vecteurs dues aux variations climatiques.

Nos résultats sur la réduction du TIE suite à l'introduction des RII sont semblables à ceux de certaines études où de fortes réductions de la transmission ont été obtenues à l'intérieur des cases protégées (Carnevale *et al.*, 1988 ; Doumbo *et al.*, 1991 ; Karsh *et al.*, 1993). D'autres études démontrent, comme dans la nôtre, une réduction du TIE auprès des sujets n'utilisant pas les matériaux imprégnés d'insecticide mais vivant dans une zone protégée (Carnevale *et al.*, 1988 ; Magesa *et al.*, 1991).

#### 5.2.4 Dynamique de la transmission

Au Burkina Faso, la transmission du paludisme est saisonnière et est assurée majoritairement par *An. gambiae s.l.* et *An. funestus s.l.*. Perceptible après le début des pluies, cette transmission s'effectue en grande partie entre le milieu de la saison pluvieuse et le début de la saison sèche (Robert *et al.*, 1985 ; 1986). L'installation des RII dans nos villages d'étude réduit de façon générale et importante l'intensité de la transmission tout en maintenant le pic au mois de septembre chaque année. La plus courte durée de la transmission (4 mois au lieu de 5) que nous avons observée après l'installation des RII pourrait s'expliquer par une très forte réduction de la proportion de femelles infectées qui devient alors non perceptible par nos moyens d'échantillonnage en fin de saison pluvieuse. Nos résultats sur la dynamique des populations vectorielles montrent d'ailleurs une forte réduction des densités de *An. gambiae*

s.l. durant ces périodes de l'année, puisque son développement est tributaire des pluies. Nous n'avons pas observé de suppression de la transmission en début de saison pluvieuse ; ceci pourrait être lié au fait que le changement des rideaux endommagés et la re-imprégnation des RII sont effectués en juin/juillet alors que les pluies ont déjà commencé ; cette période d'imprégnation nous est imposé par le retard annuel de livraison des rideaux par notre fournisseur. Nous pensons que, pour un meilleur contrôle des moustiques, les RII devraient être re- imprégnés juste avant les premières pluies.

### **5.3 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur le comportement de piqûre de *An. gambiae* s.l.**

#### **5.3.1 Lieux de piqûre (endophagie/exophagie)**

A notre connaissance, nos données représentent le plus long suivi d'un impact entomologique de l'utilisation à large échelle d'un insecticide pour le contrôle des vecteurs du paludisme en Afrique. Il y a 40 ans, des pulvérisations dans les cases avec de la dieldrine ont été réalisées pendant trois ans et demi au Kenya et en Tanzanie (Smith et Draper, 1959; Draper et Smith, 1960). Une grande réduction des densités vectorielles à l'intérieur et à l'extérieur des cases a été obtenue pendant la durée du traitement. Le rapport densité intérieure/densité extérieure n'a pas été calculé mais les données présentées ne suggèrent pas de changement majeur dans les habitudes des moustiques. La pulvérisation de propoxur dans les cases telle qu'elle a été mise en oeuvre dans le projet Garki, au Nigeria, pendant 2 ans au cours des années 70, a semblé entraîner une sélection de la fraction la plus exophage de la population vectorielle (Molineaux et Gramiccia, 1980). Cependant, ces données n'ont concerné que 2 villages traités contre 1 contrôle ; il est donc difficile de conclure.

Nos résultats d'une non diminution du rapport agressivité intérieure/agressivité extérieure sont concordants avec ceux obtenus en Gambie par Quinones et coll. en 1997.

Cependant, il faut noter que cette dernière étude n'avait duré que trois semaines. D'autres études sur les moustiquaires imprégnées d'insecticide n'ont pas montré d'évidence d'une augmentation de la densité à l'extérieur des cases (Lindsay *et al.*, 1993 ; Thomson *et al.*, 1995). Mbogo et coll. (1996) rapportent quant à eux, une augmentation dans le taux de piqûres à l'extérieur par rapport à celui mesuré à l'intérieur des cases, et une tendance des vecteurs à piquer plus tôt dehors suite à l'introduction de moustiquaires imprégnées d'insecticide. Cependant, ces changements sont survenus tout de suite après la mise en oeuvre de l'intervention, ce qui ne va pas dans le sens d'une sélection de génotypes piquant plus tôt ou dehors. Darriet et coll. (1984), lors d'une étude expérimentale dans la région de Bobo Dioulasso, ont observé que dans les cases avec moustiquaires non imprégnées, 33% des *An. gambiae s.l.* et 27% des *An. funestus s.l.* avaient tendance à quitter les cases pour se reposer à l'extérieur (exophilie), contre 97% des effectifs dans les cases où il y avait des moustiquaires imprégnées de perméthrine. Cette augmentation spectaculaire de l'exophilie traduisait parfaitement l'effet irritant, d'ailleurs bien connu de la perméthrine.

### 5.3.2 Rythme d'agressivité

Dans la majeure partie des régions d'Afrique, *An. gambiae s.l.* et *An. funestus s.l.* ont une agressivité maximale au cours de la seconde moitié de la nuit avec un pic d'activité entre 0 et 4 heures (Vercruysse et Jancloes, 1981 ; Wernsdorfer et McGregor, 1988). Avant minuit, les agressivités dues à chacun de ces vecteurs ne constituent que 14% du total de la capture dans une zone urbaine du Sénégal (Vercruysse et Jancloes, 1981). Dans notre étude, les RII n'ont pas modifié le cycle d'agressivité de *An. gambiae s.l.* qui reste agressif à environ 20% entre 19 et 22 heures ; par contre, *An. funestus s.l.* semble avoir été affecté par la mesure puisque les proportions capturées dans la première partie de la soirée sont statistiquement plus faibles dans les villages avec les RII que dans ceux sans RII. Deux explications possibles : ou

bien cette espèce pique plus tard à l'intérieur des cases ou bien elle pique les animaux dehors. Dans tous les cas, il est important de noter un changement dans le comportement de piqûre de cette espèce dont les densités diminuent d'ailleurs dans notre zone d'étude, suite à l'introduction des RII.

### 5.3.3 Anthropophilie de *Anopheles gambiae s.l.*

Nos résultats de l'impact de l'intervention sur la proportion des repas sanguins pris sur homme sont encore difficiles à interpréter. Il est possible que cette proportion ait diminué dans la zone intervention, mais puisqu'elle varie d'année en année dans les villages contrôle, on ne peut pas exclure que la baisse dans les villages intervention soit due au hasard. Toutefois, les résultats de l'étude moléculaire, comparant le choix de l'hôte des deux espèces du complexe *An. gambiae s.l.* présentes dans la zone d'étude montrent que toutes les deux augmentent leur prise de repas sanguin sur bovins en présence des RII.

Si la baisse de l'anthropophilie dans la zone RII était réelle, cela indiquerait une sélection de génotypes zoophiles, qui, si elle était confirmée, serait bénéfique pour les habitants de la zone.

L'étude kenyane de Draper et Smith (1960) conduite pendant trois ans et demi n'a pas montré de changement dans le choix de l'hôte de *An. gambiae s.l.*. Les études sur les moustiquaires imprégnées ont en général mentionné de petites baisses dans la proportion de repas sanguins pris sur homme statistiquement non significatifs (Lindsay *et al.*, 1993, Mbogo *et al.*, 1996; Magbity *et al.*, 1997, Quinones *et al.*, 1997), sauf une en Gambie qui reporte une réduction statistiquement différente (Thomson *et al.*, 1995).

#### **5.4 Influence de la position du village sur les paramètres de la transmission**

Nos données suggèrent que l'impact des RII sur les agressivités vectorielles et les taux sporozoïtiques est meilleur dans les villages protégés par les RII qui sont entourés par d'autres villages eux-mêmes couverts avec les RII, que dans les villages protégés, voisins de la zone non couverte par les RII. Ceci est compatible avec un "effet de masse" des RII sur les vecteurs, avec quelques ré-invasions de moustiques venant de l'extérieur vers les villages à la périphérie de la zone protégée. Les résultats de 1995 dans des villages avant introduction des RII, présentant des agressivités vectorielles et des taux sporozoïtiques plus élevés dans la zone centrale que dans la zone périphérique, nous confortent dans le fait que les observations de 1996 à 1999 sont dus à un effet de masse. Un tel impact sur les densités vectorielles à l'extérieur des cases (75% - 90%), compatible avec un effet de masse, a été reporté par Draper et Smith (1960) et Smith et Draper (1959) dans une zone de plus de 1000 km<sup>2</sup> donc de taille comparable à la nôtre. Dans le projet Garki, où l'intervention (pulvérisation intra-domiciliaire) touchait plus de 100 km<sup>2</sup>, une réduction de 90% du taux de piqûre à l'extérieur a été mise en évidence dans un village sentinelle et 50% dans un autre (Molineaux et Gramiccia, 1980). Les résultats des études où l'intervention, en général des moustiquaires imprégnées d'insecticide, couvrait des zones plus petites (1 village par exemple), étaient plus mitigés avec des effets de masse ou non (Robert et Carnevale, 1991; Karsh *et al.*, 1993; Thomson *et al.*, 1995 ; Mbogo *et al.*, 1996 ; Quinones *et al.*, 1998). Ces différences pourraient être expliquées par la capacité de dispersion du vecteur.

#### **5.5 Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur la distribution des espèces**

##### **5.5.1 Distribution spatiale des espèces de moustiques avant et après l'installation des rideaux imprégnés d'insecticide**

La distribution des différentes espèces de moustiques représentées dans la zone d'étude pourrait être d'une manière ou d'une autre influencée par la présence des RII, puisque

les différentes espèces ne réagissent pas de la même manière aux insecticides. C'est ainsi que, sur le plan phénotypique, la distribution spatiale des différentes espèces rencontrées avant et après l'installation des RII montre un impact de la mesure sur les moustiques du genre *Anopheles* comparativement à ceux des autres genres. Nos résultats montrant une diminution proportionnelle de *An. gambiae s.l.* par rapport aux moustiques des autres genres suggèrent la plus faible sensibilité de ces genres à la mesure. Les différentes études sur la sensibilité des moustiques aux insecticides ont toujours consacré les genres autres que *Anopheles*, en particulier les moustiques du genre *Aedes*, comme les moins sensibles aux insecticides. C'est pourquoi les moustiques de ce genre sont le plus souvent utilisés pour les différentes expériences d'identification de doses léthales de nouveaux insecticides. La diminution de la proportion relative de *An. gambiae s.l.* avec l'introduction des RII dans les villages suggère un remplacement de cette espèce par les espèces des autres genres de moustiques qui, s'il se réalisait, serait bénéfique dans la lutte contre le paludisme. Malheureusement, les différences entre zones protégée et non protégée ne sont statistiquement significatives qu'en 1995.

#### 5.5.2 Distribution de *Anopheles gambiae s.l.* selon l'état de réplétion des femelles

Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative entre la proportion de femelles gorgées capturées à l'intérieur des cases des villages protégés et celle capturée dans les villages non protégés. Nos résultats sont concordants avec les études réalisées en Afrique sur l'influence des MII sur les taux de sortie des femelles des cases protégées (Darriet *et al.*, 1984 ; Lines *et al.*, 1985 ; Quinones *et al.*, 1998). Cependant, toutes ces études ont montré une tendance à la diminution du taux de gorgement des femelles (femelles gorgées/femelles capturées) à l'intérieur des cases équipées de matériaux imprégnés d'insecticide alors que nous avons observé une tendance à l'augmentation de ce taux dans nos cases protégées par les RII. Nous pensons que dans le cadre des études avec des

moustiquaires imprégnées, les moustiques, après avoir piqué à travers la moustiquaire, peuvent ressortir librement et éventuellement mourir si la dose d'insecticide qu'ils ont contractée est létale. Darriet et coll. (1984) ont d'ailleurs mentionné dans les conditions expérimentales, que la perméthrine est dépourvue d'un effet "knock down" important, de sorte que les femelles, seulement incommodées par son effet irritant, ont le temps de se gorger avant de contracter ou non une dose létale. Cependant, Lines et coll. (1985) ont aussi travaillé avec des rideaux et trouvé une tendance contraire à la nôtre. Nous devons rappeler que dans notre étude, les rideaux ont été installés à toutes les ouvertures des cases, bloquant ainsi toutes les issues pour les moustiques, alors que Lines et coll. (1985) indiquent que dans leur étude qui se déroulait en cases expérimentales, le matériel n'empêchait pas physiquement l'entrée donc la sortie des moustiques.

### 5.5.3 Distribution spécifique de *Anopheles gambiae s.l.*

Nos résultats de l'influence de la position des villages sur les paramètres de la transmission ont démontré un effet plus marqué dans les villages situés au centre de la zone d'étude. Par conséquent, nous avons choisi de comparer les moustiques provenant du centre de la zone à ceux de la zone non protégée pour voir si les RII avaient un impact sur la distribution des espèces du complexe *An. gambiae s.l.*. Nous avons pu, grâce à la technique PCR, nous rendre compte que *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* ne présentaient pas la même sensibilité à la perméthrine. En effet, la plus forte proportion de *An. gambiae s.s.* rencontrée au cœur de la zone protégée par les RII comparativement à celle de *An. arabiensis* semble indiquer une plus forte sensibilité de *An. arabiensis* à la perméthrine.

La distribution des espèces du complexe dans le temps varie d'une année à l'autre, même dans la zone sans RII, montrant ainsi que d'une année à l'autre, des facteurs climatiques

ou écologiques pourraient influencer cette distribution. Cependant, nous notons que la proportion relative de *An. arabiensis* est toujours plus faible dans la zone avec RII que dans la zone sans RII, et que la proportion relative de *An. gambiae s.s.* est toujours plus élevée dans la zone protégée par les RII.

*An. gambiae s.s.* est toujours significativement plus représenté à l'intérieur des cases qu'à l'extérieur et *An. arabiensis* toujours significativement plus représenté à l'extérieur qu'à l'intérieur des cases au cours des deux années de suivi de la distribution des espèces. Les captures à l'extérieur des cases étant faites à l'aide de pièges lumineux CDC, les moustiques capturés sont supposés être ceux qui viennent pour piquer le dormeur sous moustiquaire. De ce point de vue, nous pouvons dire que *An. arabiensis* est plus exophage que *An. gambiae s.s.*. A l'intérieur des cases, ce sont des moustiques au repos que nous capturons après pulvérisation d'un insecticide à base de pyréthre. *An. gambiae s.s.* est donc plus endophile que *An. arabiensis*. En faisant un rapprochement de ces observations, nous pouvons en déduire que *An. arabiensis* a une tendance exophage/exophile et *An. gambiae s.s.* une tendance endophage /endophile.

En 1997, Lemasson et coll., lors d'une étude dans un village sahélien du Sénégal, ont trouvé que *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* avaient une endophagie similaire bien que la première espèce soit plus endophile que la seconde. Dans le même pays, Faye et coll. (1997) trouvent ces deux espèces endophiles en zone aride où les lieux de repos à l'extérieur des cases sont limités. Cependant, les habitudes de la population des trois villages d'étude à dormir en dehors des cases durant toute l'année obligent les deux espèces à l'exophagie. *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* sont donc aptes à piquer dedans ou dehors selon la disponibilité de l'hôte.

Notre étude s'est déroulée dans une zone de savane soudanienne où *An. gambiae s.s.* est principalement représenté par la forme chromosomique Mopti. Les mêmes observations ont été faites en 1986 par Petrarca et coll. au Burkina faso. L'étude de la distribution géographique et saisonnière des espèces du complexe *An. gambiae s.l.* au Mali et au Burkina Faso a mis en évidence la présence de la forme chromosomique Mopti dans toutes les zones écologiques y compris le Sahel et les zones pré-désertiques, montrant ainsi des fréquences relativement élevées. Cette espèce se développe également bien pendant la saison sèche (Touré *et al.*, 1983, 1998 ; Robert *et al.*, 1989).

La remarquable flexibilité écologique de *An. gambiae s.s.* Mopti, c'est à dire son aptitude à s'adapter à toutes les situations écologiques, serait liée à de larges variations saisonnières et géographiques d'une inversion polymorphique (2R, bc/u) (Touré *et al.*, 1998). Cette flexibilité expliquerait pourquoi *An. gambiae s.s.* Mopti est généralement plus fréquente que sa sœur jumelle *An. gambiae s.s.* Savanna. *An. gambiae s.s.* Savanna est plus adaptée aux savanes relativement humides et son développement survient en général pendant la saison pluvieuse seulement, et en dehors des zones inondées ou irriguées (Touré *et al.*, 1998).

#### 5.5.4 Relations entre espèces (*An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*) et degré d'infection

*An. gambiae s.s.* semble héberger plus souvent *P. falciparum* que *An. arabiensis*. Lemasson et coll. avaient également observé en 1997 au Sénégal, une différence dans le taux sporozoïtique de ces deux espèces, la première espèce étant plus infectée que la seconde. Dans le même pays, une étude menée dans un village de la région soudano sahélienne (Fontenille *et al.*, 1997) a montré la même année des indices sporozoïtiques similaires entre les deux espèces.

Le plus fort taux d'infection de *An. gambiae s.s.* pourrait s'expliquer soit par une plus forte fréquence dans la prise de son repas de sang humain, ce qui augmenterait les contacts de

ce vecteur avec les porteurs de *Plasmodium*, soit par une meilleure susceptibilité génétique de *An. gambiae s.s.* au *Plasmodium* telle que rapportée par Petrarca et Beier en 1992 au Kenya.

#### 5.5.5 Relation entre espèces (*An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*) et degré d'anthropophilie

*An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* ont une anthropophilie similaire dans la zone non protégée par les RII. Diatta et coll. (1998), dans une étude faite au Sénégal, observent que lorsque les appâts localisés à l'extérieur des cases sont équitablement disponibles, les deux espèces ont des préférences trophiques similaires. Des indices d'anthropophilie similaires entre les espèces ont également été obtenus lors des études de Lemasson et coll. (1997) et de Fontenille et coll. (1997).

L'évaluation du degré d'anthropophilie, basée uniquement sur la détermination de la proportion de repas sanguin pris sur homme est dépendant des conditions spécifiques dans lesquelles les échantillons ont été collectés et l'extrapolation à d'autres conditions est strictement impossible ; en effet, le degré d'anthropophilie est une mesure de la sélection finale de l'hôte qui est le point final d'une série de comportements et réponses à des stimuli internes et externes, modulés par la chance et l'environnement (Costantini *et al.*, 1999a). Par conséquent, les conclusions tirées de nos observations ne peuvent pas être généralisées. *An. gambiae s.s.* est très anthropophile dans toute sa distribution alors que la sélection de l'hôte de *An. arabiensis* est plus difficile à généraliser. En effet, selon la disponibilité de l'hôte humain par rapport à d'autres hôtes alternatifs, le degré d'anthropophilie de cette espèce est généralement élevé, mais, dans les régions où le bétail est abondant, l'anthropophilie peut chuter en faveur des repas bovins (Coluzzi *et al.*, 1979). Il est donc important d'aborder les études sur les comportements de prise des repas sanguins avec prudence. La comparaison entre les deux espèces devrait se faire seulement lorsque celles-ci sont toutes également et simultanément représentées.

Dans la zone protégée par les RII, *An. gambiae s.s.* est significativement plus anthropophile que *An. arabiensis*. Cependant, les 2 espèces sous pression insecticide semblent augmenter leur prise de repas sur bovins, mais *An. arabiensis* non gorgé sur homme, a tendance à prendre plus son repas sanguin sur bovins comparativement à *An. gambiae s.s.*. Ceci rejoint les observations de Coluzzi et coll. en 1979 au Nigéria.

*An. arabiensis* moins anthropophile que *An. gambiae s.s.* en zone protégée, semble également héberger moins de parasites. Nos résultats sont concordants puisqu'un moustique moins anthropophile est un moins bon vecteur du fait de son plus faible taux de contact avec les porteurs de *Plasmodium*. De plus, sa sensibilité à la perméthrine impliquerait une longévité réduite et donc une incapacité pour ce moustique d'atteindre l'âge épidémiologiquement dangereux.

## 5.6 Efficacité et rémanence de l'insecticide sur les rideaux

Nos résultats sur les bio-essais sont concordants avec ceux de M'Bogo et coll. (1996) qui observent également une rémanence d'au moins 8 mois et une plus grande efficacité des moustiquaires imprégnées qui sont sales (94,1% de mortalité des moustiques) par rapport à celles qui sont propres (84,5% de mortalité). En d'autres termes, les moustiquaires anciennement imprégnées se montrent plus efficaces que celles qui le sont nouvellement. Ce fait a été également observé lors de notre étude où nous avons noté une plus grande efficacité des rideaux imprégnés des cases de la zone d'étude par rapport à des rideaux neufs nouvellement imprégnés et utilisés comme contrôles positifs lors des bio-essais. Binka, en 1997, a observé une diminution de l'efficacité des MII avec le temps. M'Bogo et coll. (1996)

notent quant à eux que la re-imprégnation augmente l'efficacité des moustiquaires ; ils expliquent cela par le fait que le lavage ne supprime pas totalement l'insecticide de sorte que la ré-imprégnation à la même dose aboutit à une concentration plus élevée sur le tissu. Dans le même ordre d'idée, Lindsay et coll. (1993) en Gambie notent que les moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII) tuent plus de moustiques que celles non traitées et qu'il n'y a pas une décroissance linéaire dans la mortalité des moustiques exposés aux MII lorsque le nombre de lavages augmente. Ils expliquent cela par le fait que, la distribution de l'insecticide n'est pas homogène sur le tissu, de sorte que, après lavage, les parties à fort dosage se distribueraient à nouveau sur tout le tissu.

Nos résultats depuis 1996 montrent des taux de mortalité d'au moins 93%, les valeurs les plus élevées étant toujours observées au cours des bio-essais des mois d'octobre. Le mois d'octobre correspond à la fin de la saison pluvieuse alors que février constitue un mois sec et froid, non favorable au développement des moustiques du genre *Anopheles*. Les moustiques testés en février seraient capables de résister aux intempéries et seraient peut-être plus vigoureux et probablement un peu moins sensibles à l'insecticide ce qui expliquerait que le taux de mortalité soit un peu plus faible à cette période de l'année.

## **6. CONCLUSION**

Au cours de notre étude de l'influence des RII sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme, nous avons observé que les agressivités dues à *An. gambiae s.l.*, principal vecteur dans la zone d'étude, de même que le pourcentage de femelles hébergeant *Plasmodium falciparum* ont été réduits suite à l'introduction des RII ; par conséquent, la transmission du paludisme a grandement baissé en intensité mais également sa durée a été modérément écourtée.

Les caractéristiques comportementales de *An. gambiae s.l.* n'ont pas subi de grands changements suite à l'introduction des RII. Par rapport au risque que les vecteurs piquent plus tôt et plus souvent à l'extérieur des cases, aucune variation significative n'existe six ans après l'installation des RII. Seule une possible diminution de l'anthropophilie - qui d'ailleurs aurait un effet positif en termes de réduction de la transmission - reste à confirmer.

On pouvait craindre également l'apparition d'une certaine résistance du vecteur à la perméthrine avec le temps, mais, les bons résultats obtenus sur les agressivités même les dernières années ne vont pas dans ce sens. Les RII ont un effet bénéfique sur le plan individuel et collectif par la réduction considérable du contact homme/vecteur et de la nuisance due aux moustiques.

Nous devons toutefois rappeler que ce travail trouve sa place dans un projet dont l'objectif principal était l'étude de l'impact des RII sur la mortalité des enfants de 6 mois à 5 ans. Le cadre n'avait donc pas été conçu pour une étude purement entomologique. Il reste cependant que notre étude constitue, à notre connaissance, la seule au monde à avoir un si long suivi de l'impact des RII sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme.

Les résultats impressionnants de diminution de la transmission du paludisme obtenus vont de pair avec une réduction de la mortalité toutes causes confondues, enregistrée chez les enfants, même si cette dernière réduction est beaucoup moins spectaculaire (Habluetzel *et al.*,

1997 ; Diallo *et al.*, 1999 ). Malgré la forte baisse de la transmission, nous n'avons jamais pu enregistrer un impact des RII sur la morbidité palustre (Habluetzel *et al.*, 1999).

Si les matériaux imprégnés, en particulier les RII appliqués à large échelle, se sont révélés être un outil très efficace pour la réduction de la transmission du paludisme, nous devons cependant rester vigilants sur les problèmes de résistance des vecteurs à l'insecticide qui pourraient survenir avec le temps.

Quant à la vulgarisation à large échelle de ce type de matériaux, on peut conclure de nos travaux, que, d'un point de vue purement entomologique, l'outil protège effectivement contre les piqûres de moustiques et diminue la transmission du paludisme. Cependant, l'utilisation correcte de ce matériel par les populations est un facteur très important dans le succès de la mise en œuvre de ces matériaux, et nous devons nous efforcer de toujours informer et sensibiliser les populations à cette fin.

Les études encore en cours au CNRFP sur la comparaison du profil immunologique de la population vivant sous RII et celle vivant hors de la zone protégée apporteront des éléments au débat toujours actuel sur l'impact à long terme de ces matériaux sur la mortalité chez les enfants.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Alonso P. L., Lindsay S. W., Armstrong Shellenberg J. R. M., Keita K., Gomez P., Shenton F. C., Hill A. G., David P. H., Fegan G., Cham K. and Greenwood B. M. (1993) A malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of the Gambia, West Africa - The impact of the interventions on mortality and morbidity from malaria, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *87*, supplement 2, 37-44
- Barbazan P., Baldet T., Darriet F., Escaffre H., Haman D. D. and Hougard J-M. (1997) Control of *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) with *Bacillus sphaericus* in Maroua, Cameroon, *Journal of the American Mosquito Control Association*, *13*(3), 263-269
- Binka F. N. (1997) Impact and determinants of permethrin impregnated bednets on child mortality in northern Ghana, *These de Doctorat, Université de Bale, Suisse*, 193p
- Binka F. N., Kubaje A., Adjuik M., Williams L. A., Lengeler C., Maude G. H., Armah G. E., Kajihara B., Adiamah J. H. and Smith P. G. (1996) Impact of permethrin impregnated bednets on child mortality in Kassena-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial, *Tropical Medicine and International Health*, *1*, 147-154
- Blagoveschensky D., Bregetova N. and Monchadsky A. (1945) An investigation on new repellents for the protection of man against mosquito attacks, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *39*, 147-150
- Bruce-Chwatt L.J. (1985) Essential malariology, *Second Edition*, William Heinemann Medical Books, London, 452p
- Burkot T. R., Williams J. L. and Schneider I. (1984) Identification of *Plasmodium falciparum*-infected mosquitoes by a double-antibody enzyme-linked immunosorbent assay, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *33*, 783-788
- Carlson D. A. and Service M. W. (1980) Identification of mosquitoes of *Anopheles gambiae* species complex A and B by analysis of cuticular components, *Science*, *207*, 1089 - 1091
- Carnevale P. et Le Pont F. (1973) Epidémiologie du paludisme humain en République Populaire du Congo. Utilisation des pièges lumineux "C.D.C." comme moyen d'échantillonnage des populations anophéliennes, *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie médicale et Parasitologie.*, *XI*, 263-270
- Carnevale P., Robert V., Boudin C., Halna J. M., Pazart L., Gazin P., Richard A. et Mouchet J. (1988) La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes au Burkina Faso, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, *81*, 832-846
- Collins F. H., Mendez M. A., Rasmussen M. O., Mehaffey P. C., Besansky N. J. and Finnerty V. (1987) A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of the *Anopheles gambiae* complex, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *37*, 37-41
- Collins F. H., Petrarca V., Mpofo S., Brandling-Bennett A. D., Were J. B. O., Rasmussen M. O. and Finnerty V. (1988) Comparison of DNA probe and cytogenetic methods for identifying field collected *Anopheles gambiae* complex mosquitoes, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *39*, 545-550

- Coluzzi M. and Sabatini A. (1967)** Cytogenetic observations on species A and B of the *Anopheles gambiae* complex, *Parassitologia*, **9**, 73-88
- Coluzzi M. (1968)** Chromosomi politenici delle cellule nutrici ovariche nel complesso *gambiae* del genera *Anophele*, *Parassitologia*. **10**, 179-183
- Coluzzi M., Sabatini A., Petrarca V. and DiDeco M. A. (1979)** Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in *Anopheles gambiae* complex, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **73**, 483-497
- Costantini C., Sagnon N'F., Sanogo E., Merzagora L. and Coluzzi M. (1998)** Relationship to human biting collections and influence of light-trap catches of West African malaria vectors, *Bulletin of Entomological Research*, **88**, 503-511
- Costantini C., Sagnon N'F., Della Torre A. and Coluzzi M. (1999a)** Mosquito behavioural aspects of vector-human interactions in the *Anopheles gambiae* complex, *Parassitologia*, **41**, 209-217
- Costantini C., Sagnon N'F., Ilboudo-Sanogo E., Coluzzi M. and Boccolini D. (1999b)** Chromosomal and bionomic heterogeneities suggest incipient speciation in *Anopheles funestus* from Burkina Faso, *Parassitologia*, **41**, 595-611
- Coz J., Hamon J., Vervent G. et Sales S. (1971)** Contribution à l'étude du piège lumineux "C.D.C. miniature light trap" comme moyen d'échantillonnage des populations anophéliennes dans le Sud-Ouest de la Haute-Volta, *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie médicale et Parasitologie.*, **IX**, 417-430
- Cuzin-Ouattara N., van den Broek A. H., Habluetzel A., Diabaté A., Sanogo-Ilboudo E., Diallo D. A., Cousens S. N. and Esposito F. (1999)** Wide-scale installation of insecticide-treated curtains confers high level of protection against malaria transmission in a hyperendemic area of Burkina Faso, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **93**, 473-479
- D'Alessandro U., Olaleye B. O., McGuire W., Langerock P., Bennett S., Aikins M. K., Thomson M. C., Cham M. K., Cham B. A. and Greenwood B.M. (1995)** Mortality and morbidity from malaria in Gambian children after introduction of an impregnated bednet programme, *The Lancet*, **345**, 479-483
- Darriet F., Robert V., Tho Vien N. et Carnevale P. (1984)** Evaluation de l'efficacité sur les vecteurs du paludisme de la perméthrine en imprégnation sur des moustiquaires intactes et trouées, *Organisation Mondiale de la Santé WHO/VBC/84.899, WHO/MAL/84.1008*
- Davidson G. (1962)** *Anopheles gambiae* complex, *Nature*, **196**, 907
- Davidson G. (1956)** Insecticide resistance in *Anopheles gambiae* Giles : a case of simple Mendelian inheritance, *Nature*, **178**, 863-864
- Davidson G. and Hunt R. H. (1973)** The crossing and chromosome characteristics of a new, sixth species in the *Anopheles gambiae* complex, *Parassitologia*, **XV**, 121-128

**Davison G. and Jackson C. E. (1962)** Incipient speciation in *Anopheles gambiae* Giles, *Bulletin of the World Health Organisation*, **27**, 303-305

**Davidson G., Paterson H. E., Coluzzi M., Mason G. F. and Micks D. W. (1967)** The *Anopheles gambiae* complex. Chapter 6 in *Genetics of Insect Vectors of Disease*, eds Wright, J. W. and Pal, R. Elsevier Publ. Co., Amsterdam, pp 211-250

**Diallo D.A., Habluetzel A., Cuzin-Ouattara N., Nébié I., Sanogo E., Cousens S.N. and Esposito F. (1999)** Widespread distribution of insecticide-impregnated curtains reduces child mortality, prevalence and intensity of malaria infection, and malaria transmission in rural Burkina Faso, *Parassitologia*, **41**, 377-381

**Diatta M., Spiegel A., Lochouarn L. and Fontenille D. (1998)** Similar feeding preferences of *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis* in Senegal, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **92**, 270-272

**Doannio J.M.C., Hougard J-M., Dossou-Yovo J., Duval J. (1986)** Evaluation en milieu naturel de l'activité de trois analogues de régulateurs de croissance, l'OMS 3007, l'OMS 3010 et l'OMS 3019, sur *Culex quinquefasciatus* en Afrique de l'Ouest, *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie médicale et Parasitologie*, **XXIV**, 287-291

**Dossou-Yovo J., Ouattara A., Doannio JM., Rivière F., Chauvancy G. and Meunier JY. (1994)** Aspects of malaria in a village of the humid savannah of the Ivory Coast, *Med. Trop.*, **54**, 331-336

**Doumbo O., Traoré S. F., Sow Y., Dembélé M., Soula G., Coulibaly A., Dolo A., Sangaré O., Koita O., Pichard E. et Touré Y. T. (1991)** Impact des rideaux et couvertures imprégnés de perméthrine sur les indices paludométriques et le nombre d'accès palustres par enfant dans un village d'hyperendémie palustre de savane Malienne, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **84**, 761-774

**Daper C. C. and Smith A. (1960)** Malaria in the Pare area of Tanganyika. Effects of three years' spraying of huts with dieldrin, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **54**, 342-357

**Esposito F., Lombardi S., Modiano D., Zavala F., Remme J., Lamizana L., Coluzzi M. and Nussenzweig R. S. (1988)** Prevalence and levels of antibodies to the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* in an endemic area and their relationship to resistance against malaria infection, *Transactions of the Royal society of Tropical Medicine and Hygiene*, **82**, 827-832

**Evans A. M. (1938)** Mosquitoes of the Ethiopian region II-*Anophelini*, adults and early stages, *British Museum (Nat. Hist.) : London*

**Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Sidén-Kiamos I. and Louis C. (2001)** Molecular characterization of ribosomal DNA (rDNA) polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s. s., *Insect Molecular Biology*, **10** (1), 19-23

**Faye O., Konaté L., Mouchet J., Fontenille D., Sy N., Hebrard G. and Hervé J. P. (1997)** Indoor resting by outdoor biting females of *Anopheles gambiae* complex (Diptera: Culicidae) in the sahel of northern Senegal, *Journal of Medical Entomology*, **34**, , 285-289

**Fontenille D., Faye O., Konaté L., Sy N. et Collins F. H. (1993)** Comparaison des techniques PCR et cytogénétique pour la détermination des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Sénégal, *Annale de Parasitologie Humaine et comparée*, **68**, 239-240

**Fontenille D., Lochouart L., Diatta M., Sockhna C., Dia I., Diagne N., Lemasson J.-J., Ba K., Rogier C. and Trape J. F. (1997)** Four years entomological study of the transmission of seasonal malaria in Senegal and the bionomics of *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis*, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **91**, 647-652

**Gillies M. T. and De Meillon B. (1968)** The *Anophelinae* of Africa south of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region), *The South African Institute for Medical Research*, N. 54, P.O. Box 1038, Johannesburg.

**Githeko AK, Service MW, Mbogo CM and Atieli FK (1996)** Resting behaviour, ecology and genetics of malaria vectors in large scale agricultural areas of Western Kenya, *Parassitologia*, **38**, 481-489

**Graves P. M., Brabin B. J., Charlwood J. D., Burkot T. R., Cattani J. A., Ginny M., Paino J., Gibson F. D. and Alpers M. P. (1987)** Reduction in incidence and prevalence of *Plasmodium falciparum* in under-5-year-old children by permethrin impregnation of mosquito nets, *Bulletin of the World Health Organisation*, **65**, 869-877

**Habluetzel A., Cuzin N., Diallo D. A., Nebie I., Belem S., Cousens S.N. and Esposito F. (1999)** Insecticide-treated curtains reduce the prevalence and intensity of malaria infection in Burkina Faso, *Tropical Medicine and International Health* **4**, 557-564

**Habluetzel A., Diallo D. A., Esposito F., Lamizana L., Pagnoni F., Lengeler C., Traoré C. and Cousens S. N. (1997)** Do insecticide-treated curtains reduce all-cause child mortality in Burkina Faso ? *Tropical Medicine and International Health*, **2**, 855-862

**Habluetzel A., Esposito F. and Lombardi S. (1989)** 2 new methods in epidemiology and diagnosis of malaria and babesiosis. Immunotechniques for epidemiology of malaria : appropriate tools for integration of primary health care with malaria research and control, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **83**, supplement, 15-19

**Hamilton R. J. and Service M. W. (1983)** Value of cuticular and internal hydrocarbons for the identification of larvae of *Anopheles gambiae* Giles, *Anopheles arabiensis* Patton and *Anopheles melas* Theobald, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **77**, 203- 210

**Hamon J., Coz J., Adam J. P., Holstein M., Rickenbach A., Brengues J., Subra R., Sales S. et Fyraud M. (1966)** Contribution à l'étude de la répartition des anophèles en Afrique Occidentale, *Cahiers O.R.S.T.O.M., série Entomologie Médicale*, **4**, 13-70

**Harper P. A., Lisansky E. T. and Sasse B. E. (1947)** Malaria and other insect-borne diseases in the south pacific campaign 1942-1945, *American Journal of Tropical Medicine*, **27** (supplement 3), 1-68

Hougard J-M. , Kohoun G., Guillet P., Doannio J., Duval J. et Escaffre H. (1985) Evaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* Neide, 1904 souche 1593-4 dans des gîtes larvaires à *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, en Afrique de l'ouest, *Cahiers O.R.S.T.O.M., série Entomologie Médicale et Parasitologie*, **XXIII**, 35-44

Hunt R. H., Coetzee M. and Fettene M. (1998) The *Anopheles gambiae* complex : a new species from Ethiopia, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **92**, 231-235

Ilboudo-Sanogo E., Cuzin-Ouattara N., Diallo D.A., Cousens S.N., Esposito F., Habluetzel A., Sanon S. and Ouédraogo A.P. (2001) Insecticide treated materials, mosquito adaptation and mass effect: entomological observations after five years of vector control in Burkina Faso, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **95**, 353-360

Kaplan J-C. et Delpech M. (1993) Biologie moléculaire et médecine, 2<sup>ème</sup> édition, Flammarion Médecine-Sciences, PARIS, 790p

Karch, S., Garin, B., Asidi, N., Manzambi, Z., Salaun, J.J. et Mouchet, J. (1993) Moustiquaires imprégnées contre le paludisme au Zaïre, *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, **73**, 37-53

Lemasson J. J., Fontenille D., Lochouart L., Dia I., Simard F., Ba K., Diop A., Diatta M. and Molez J-F. (1997) Comparison of behavior and vector efficiency of *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis* (Diptera : Culicidae) in Barkedji, a sahelian area of Senegal, *Journal of Medical Entomology*, **34**, 395-403

Lindsay S. W. and Gibson M. E. (1988) Bednets revisited – old idea new angle, *Parasitology Today*, **4**, 270 – 272

Lindsay S. W., Alonso P. L., Armstrong Schellenberg J. R. M., Hemingway J., Adiamah J. H., Shenton F. C., Jawara M. and Greenwood B. M. (1993) A malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. Impact of permethrin-impregnated bed nets on malaria vectors, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **87**, 45-51.

Lines J. D., Curtis C. F., Myamba J. and Njau R., (1985) Tests of repellent or insecticide impregnated curtains, bednets and anklets against malaria vectors in Tanzania, *World Health Organisation, WHO/VBC/85.920*

Lines J. D., Curtis C. F., Wilkes T. J. and Njunwa K. J. (1991) Monitoring human-biting mosquitoes (Diptera : Culicidae) in Tanzania with light-traps hung beside mosquito nets, *Bulletin of Entomological Research*, **81**, 77-84

Magbity E.B., Marbiah N.T., Maude G., Curtis C.F., Bradley, Greenwood B.M., Petersen E. and Lines J.D. (1997) Effects of community-wide use of lambda-cyhalothrin-impregnated bednets on malaria vectors in rural Sierra Leone, *Medical and Veterinary Entomology*, **11**, 79-86

**Magesa S. M., Wilkes T. J., Mnzava A. E. P., Njunwa K. J., Myamba J., Kivuyo M. D. P., Hill N., Lines J. D. and Curtis C. F. (1991)** Trial of pyrethroid impregnated bednets in an area of Tanzania holoendemic for malaria effects on the malaria vector population, *Acta Tropica*, **49**, 97-108

**Majori G., Ali A. and Sabatinelli G. (1987a)** Laboratory and field efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* against *Anopheles gambiae* s. l. and *Culex quinquefasciatus* in Ouagadougou, Burkina Faso, *Journal of the American Mosquito Control Association*, **3**, 20-25

**Majori G., Sabatinelli G. and Coluzzi M. (1987b)** Efficacy of permethrin-impregnated curtains for malaria vector control, *Medical and Veterinary Entomology*, **1**, 185-192.

**Mbogo C. N. M., Baya N. M., Ofulla A. V. O., Githure J. I. and Snow R. W. (1996)** The impact of permethrin-impregnated bednets on malaria vectors of the Kenyan coast, *Medical and Veterinary Entomology*, **10**, 251-259

**Miles S. J. (1978)** Enzyme variations in the *Anopheles gambiae* Giles group of species (Diptera, Culicidae), *Bulletin of Entomological Research*, **68**, 85- 96

**Molineaux L. et Gramiccia G. (1980)** Le projet Garki : Recherches sur l'épidémiologie du paludisme et la lutte antipaludique dans la savane soudanienne de l'Afrique occidentale, *Organisation Mondiale de la Santé*, 354p

**Nevill C. G., Some E. S., Mung'ala V. O., Mutemi W., New L., Marsh K., Lengeler C. and Snow R. W. (1996)** Insecticide-treated bednets reduce mortality and severe morbidity from malaria among children on the Kenyan coast, *Tropical Medicine and International Health*, **1**, 139-146

**Odetoyinbo J. A. (1969)** Preliminary investigation on the use of light-trap for sampling malaria vectors in the Gambia, *Bulletin of the World Health Organisation*, **40**, 547-560

**OMS (1989)** The use of treated bed-nets and other materials for vector-borne diseases, Geneva, Switzerland : World Health Organisation. WHO/VBC/89, 981.32

**OMS (1990)** Permethrin, *WHO environmental Health Criteria*, n° 94, 125p

**OMS (1993)** Mise en œuvre de la stratégie mondiale de lutte antipaludique. Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS sur la mise en œuvre du plan mondial d'action pour la lutte contre le paludisme 1993-2000, *OMS, Série de rapports techniques*, n°839, 67p

**OMS (1996)** Relevé épidémiologique hebdomadaire, *OMS 71* (3), 17-24

**Paskewitz S. M. and Collins F. H. (1990)** Use of the polymerase chain reaction to identify mosquito species of the *Anopheles gambiae* complex, *Medical and Veterinary Entomology*, **4**, 367-373

**Petrarca V. and Beier J. C. (1992)** Intraspecific chromosomal polymorphism in the *Anopheles gambiae* complex as a factor affecting malaria transmission in the Kisumu area of Kenya, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **46**, 229-237

**Petrarca, V., Petrangeli, G., Rossi, P. and Sabatinelli, G. (1986)** Etude chromosomique d'*Anopheles gambiae* et *Anopheles arabiensis* à Ouagadougou (Burkina Faso) et dans quelques villages voisins, *Parassitologia*, **28**, 41-61

**Pietra V., Procacci P. G., Sabatinelli G., Kumilien S., Lamizana L. et Rotigliano G. (1991)** Impact de l'utilisation des rideaux imprégnés de perméthrine sur le paludisme dans une zone rurale de haute transmission au Burkina Faso, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **84**, 375-385

**Procacci P.G., Lamizana L., Kumlien S., Habluetzel A., and Rotigliano G. (1991)** Permethrin-impregnated curtains in malaria control, *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **85**, 181-185.

**PNLP, OCCGE, OMS/Afro, coopération Italienne, (1993)** Programme National de lutte antipaludique au Burkina Faso, *Ministère de la Santé, de l'Action Sociale et de la Famille du Burkina Faso*, 56p

**Quinones M. L., Lines J. D., Thomson M. C., Jawara M., Morris J. and Greenwood B. M. (1997)** *Anopheles gambiae* gonotrophic cycle duration, biting and exiting behaviour unaffected by permethrin-impregnated bednets in The Gambia, *Medical and Veterinary Entomology*, **11**, 71-78

**Quinones M. L., Lines J., Thomson M. C., Jawara M. and Greenwood B. M. (1998)** Permethrin-treated bed nets do not have a "mass-killing effect" on a village populations of *Anopheles gambiae* s. l. in the Gambia, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **92**, 373-378

**Ranque P., Touré Y., Soula G., Le Du., Diallo Y., Traoré O., Duflo B. et Balique H. (1984)** Etude expérimentale sur l'utilisation de moustiquaires imprégnées de deltaméthrine dans la lutte contre le paludisme, *Parassitologia*, **26**, 261-268

**Rhodhain F. et Perez C. (1985)** Précis d'entomologie Médicale, *Maloine. éditeur, Paris*, 458p

**Robert V. and Carnevale P. (1991)** Influence of Deltamethrin treatment of bed nets on malaria transmission in the Kou valley, Burkina Faso, *Bulletin of the World Health Organisation*, **69**, 735-740

**Robert V., Carnevale P., Ouedraogo V., Petrarca V. et Coluzzi M. (1988)** La transmission du paludisme humain dans un village de savane du sud-ouest du Burkina Faso, *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, **68**, 107-121

**Robert V., Gazin P., Boudin C., Molez J. F., Ouédraogo V. et Carnevale P., (1985)** La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, **65**, Supplément 2, 201-214

**Robert V., Gazin P., Ouédraogo V. et Carnevale P. (1986)** Le paludisme urbain à Bobo-Dioulasso. Etude entomologique de la transmission, *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie médicale et Parasitologie*, **XXIV**, 121-128

Robert V., Petrarca V., Carnevale P., Ovazza L. et Coluzzi M. (1989) Analyse cytogénétique du complexe *Anopheles gambiae* dans la région de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), *Annale de Parasitologie Humaine et comparée*, **64**, 290-311.

Rossi P., Belli A., Mancini L., Sabatinelli G. (1986) Enquête entomologique longitudinale sur la transmission du paludisme à Ouagadougou (Burkina Faso), *Parassitologia*, **28**, 1-15

Scott J. A., Brogdon W. G. and Collins F. H. (1993) Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain reaction, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **49**, 520-529

Service M. W. (1985) *Bulletin of the Entomological Society of America (fall)*, 2-11

Skovmand O. and Sanogo E. (1999) Experimental formulations of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis israelensis* against *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in Burkina Faso, *Journal of Medical Entomology*, **36**, 62-67

Smith A. and Draper C.C. (1959) Malaria in the Taveta area Kenya and Tanganyika : Results after three and a half years' treatment of huts with Dieldrin, *East African Medical Journal*, **36**, 627-643.

Snow R. W., Jawara M. and Curtis C. F. (1987a) Observations on *Anopheles gambiae* Giles s. l. (Diptera : Culicidae) during a trial of permethrin-treated bed nets in the Gambia, *Bulletin of entomological Research*, **77**, 279-286

Snow R. W., Kathryn M. R. and Greenwood B. M. (1987b) A trial of permethrin-treated bed nets in the prevention of malaria in Gambian children, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **81**, 563-567

Thomson M. C., Adiamah J. H., Connor S. J., Jawara M., Bennett S., D'Alessandro U., Quinones M., Langerock P. and Greenwood B. M. (1995) Entomological Evaluation of the Gambia's National Impregnated Bednet Programme, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **89**, 229-241

Touré Y. T., Petrarca V. et Coluzzi M. (1983) Répartition géographique et polymorphisme chromosomique des membres du complexe *Anopheles gambiae* au Mali *Deuxième conférence internationale sur le paludisme et les babesioses, Annecy, France*

Touré Y. T., Petrarca V., Traoré S. F., Coulibaly A., Maiga H. M., Sankaré O., Sow M., Di Deco M. A. and Coluzzi M. (1998) The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa, *Parassitologia*, **40**, 477-511

Vercruyse J. et Jancloes M. (1981) Etude entomologique de la transmission du paludisme humain dans la zone urbaine de Pikine (Sénégal), *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, **XIX**, 165-178

Wernsdorfer W. H. and McGregor Sir I. (1988) Malaria. Principles and Practice of Malariology, Churchill Livingstone Editors- Great Britain. *British library Cataloging in publication Data, volume 1*, 912p

**White T. J., Arnheim N. and Erlich H. A. (1989)** The polymerase chain reaction, *Trends in Genetics*, *5*, 185-189

**Zavala, F., Gwadz R. W., Collins F. H., Nussenzweig, R. S. and Nussenzweig, V. (1982)** Monoclonal antibodies to circumsporozoite protein identify the species of malaria parasite in infected mosquitoes, *Nature*, *299*, 737-738

**Zerba E. (1988)** Pyrethroid insecticides in Public Health, *Parasitology Today*, *4*, 51-57

# **ANNEXES**

## ANNEXE I

## CNRFP - PROJET RIDEAUX IMPREGNES (Capture CDC)

1- Daare (Date) ...../...../.....

2-Tymtymd Yuure (Nom de l'agent) .....|.....|.....

3- Tenga (village) ..... Sôdga limore (Code) |.....|

4- Zaka (Concession) |.....|

5- Saaga (Pluic) : Bedba daare ti nan pa ta wt 19-mn30, n-ye/ayo .....|.....|

Yvngo, wt 19-mn30 n taag yibeoog wt 6-,n-ye/ayo .....|.....|

6- Sebgo (vent) n-ye/ayo .....|.....|

7- Bedg guusgu (fitla + fibdga)

	Wakat	Bedga puge (Piège inférieur)	Bedga yinga (Piège extérieur)
(contrôle piège : lampe + ventilateur)	Bedga Kendame wt 22- (piège en marche à 22H)	.....	.....
	Bedga Kendame wt 6- (piège en marche à 6H)	.....	.....

8- Rumasa (moustiques)

Rams buud toay- toay (Espèces)	Bedga puge (piège intérieur)		Bedga yinga (piège extérieur)	
	Yaanga (femelles)	Raogo (mâles)	Yaanga (femelles)	Raogo (mâles)
	Soore (Nombre)			

19H - 22H

A. Gâmbiye A. Gambiae				
A. Finestis A. Funestus				
Anofell a taaba Autres anophèles				
Mansoniya sp. Mansonia sp				
Kilegs sp. Culex sp				
Ayedos sp. Aedes sp				

22H - 6H

A. Gambiye A. Gambiae				
A. Finestis A. funestus				
Anofell a taaba Autres Anophèles				
Mansoniya sp. Mansonia sp				
Kilegs sp. Culex sp				
Ayedos sp. Aedes sp				

9- Capture interrompue : oui/ non..... |.....|

Cause : ..... |.....|

**Etude transmission- Enquête transversale – capture au pyrèthre**

Captures effectuées entre 6h et 7h dans chaque village

Nom et code de l'agent:.....|\_|\_|

Date: |\_|\_|\_|\_| heure capture: |\_|\_|\_|\_| h

Nom et code du village:.....|\_|\_|\_|\_|

Code concession: |\_|\_|\_|\_|

Type de case (ronde 1, carrée 2) |\_|\_|

Nombre d'adultes (&gt;10 ans) qui ont dormi dans la maison la nuit dernière: |\_|\_|

Nombre d'enfants (&lt;=10 ans) qui ont dormi dans la maison la nuit dernière: |\_|\_|

Espèces	femelles				
	Vide	Gorgé	Partiellement gorgé Semi-gravide	Sub-gravide Gravide	Nombre total
Anopheles gambiae					
Anopheles funestus					
Autres Anopheles					
Non Anopheles					

Observations:.....

## ANNEXE III

### Protocole technique pour la détection de la protéine circumsporozoïtique (CS) présente à la surface de *P. falciparum* par le test immuno - enzymatique ELISA (Burkot *et al.*, 1984)

Matériel: Plaques pour microtitration à fond rond (PS- Microplate, 96K U-Form Allemagne) et des plaques à fond plat (Nunc-Immuno Plate U96, Danemark).

Jour 1 au soir : Mettre 100µl de tampon bloquant (Blocking Buffer = BB) dans chaque puits d'une plaque à fond rond ; fermer et laisser une nuit à +4° (réfrigérateur).

#### Jour 2 au matin

- Vider la plaque et la laver une fois à l'eau distillée. Mettre dans chaque puits un thorax de moustique à tester. Sur la dernière colonne, mettre 4 mâles pour le contrôle négatif et laisser les 4 derniers puits vides. Ajouter à chaque puits 30µl de tampon d'élution EBSP0.
- Fermer et laisser reposer la préparation pendant 30min à température ambiante pour faciliter par la suite le broyage des thorax..
- Ecraser chaque thorax de moustique avec une pipette Pasteur à bout arrondi (1 pipette par moustique). Ajouter 150µl de BB par puits.
- Garder les thorax ainsi écrasés au congélateur jusqu'à utilisation.

NB : La plaque à fond rond, une fois bloquée peut être gardée vide au congélateur pendant plusieurs nuits si l'on ne veut pas l'utiliser immédiatement.

Lorsque l'on ne veut pas écraser immédiatement les thorax, la préparation peut également être gardée au congélateur jusqu'au moment voulu.

#### Jour 2 soir

- Laver 1 fois avec du PBS 2 plaques à fond plat (plaques à essai). Eliminer tout le liquide et placer dans chaque puits 40µl d'un anticorps monoclonal 2A10 à la concentration de 2,5µg/ml dans le tampon de fixation Coating Buffer (CB), pH 7,2. Incuber une nuit à température ambiante dans une chambre humide (ou au moins 6 heures).

### Jour 3 :

*Etape 1* - Vider et laver 4 fois avec du Washing Buffer (WB) les 2 plaques à essai. Ajouter dans chaque puits 150µl de BB. Incuber une heure à température ambiante dans une boîte humide (ou une nuit au réfrigérateur).

*Etape 2* - Vider les plaques et les laver 1 fois avec du WB. Bien mélanger les extraits de thorax préalablement décongelés et transférer 40µl par puits dans les puits correspondants des plaques à essai. Dans les puits 12 E et 12F, mettre comme contrôle positif 40µl de peptide synthétique (NANP 40, pour *P. falciparum*) préparé dans du WB. Le contrôle positif peut aussi être un pool d'extraits de thorax positifs. Fermer et laisser incuber 1 heure à température ambiante dans une chambre humide.

*Etape 3* - Vider les plaques et les laver 4 fois avec du WB ; ajouter 40µl d'un anticorps monoclonal 2A10 à la concentration 2,5µg/ml dans du tampon WB et marqué à la peroxydase. Incuber une heure à température ambiante dans une boîte humide.

*Etape 4* - Vider les plaques et les laver 6 fois avec du WB. Ajouter par puits 100µl de tampon SUB-PER préparé à la dernière minute. Mettre les plaques à l'obscurité pendant 20-30min.

*Etape 5* - Retirer les plaques de l'obscurité et stopper la réaction avec 25µl d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 18N) et faire la lecture de la densité optique au spectrophotomètre à 492nm.

Un puits était considéré comme positif lorsque sa densité optique était supérieure ou égale à la moyenne des contrôles négatifs + 2 déviations standard ( $DO \geq 0,100$ ).

## ANNEXE IV :

### Protocole technique pour l'identification de l'origine des repas sanguins (Habluetzel *et al.*, 1989).

Matériel: Plaques pour microtitration à fond rond (PS- Microplate, 96K U-Form Allemagne) et des plaques Maxisorp à fond plat (Nunc-Immuno Plate U96, Danemark).

Jour 1 : Remplir chaque puits d'une plaque à fond rond avec 150µl de BB ; laisser incuber une nuit au réfrigérateur (ou 1 heure à température ambiante) dans une boîte humide.

Jour 2 : Laver la plaque 1 fois à l'eau distillée puis placer dans chaque puits un abdomen de moustique ; laisser la douzième colonne vide. Ajouter dans chaque puits 50µl de PBS AZIDE et placer la plaque une nuit au congélateur.

Jour 3 :

*Etape 1* - Ecraser chaque abdomen avec une pipette Pasteur à bout arrondi (1 pipette pour 1 abdomen). Ajouter 150µl de PBS AZIDE par puits et utiliser immédiatement, si non, placer la plaque dans le congélateur jusqu'au jour du test.

*Etape 2* - Laver 1 fois avec du PBS simple 2 plaques à fonds plats et mettre dans chaque puits 75µl de PBS AZIDE ; laisser la dernière colonne vide pour les contrôles.

*Etape 3* - Bien mélanger les extraits d'abdomen ; transférer 25µl par puits dans les puits correspondants des plaques à essai. Mettre en double dans la dernière colonne de chaque plaque 100µl de sérum dilué (1:1000) de l'homme et des animaux retenus pour contrôle. Laisser le dernier puits de chaque plaque vide pour faire le blanc et placer les plaques à température ambiante dans une boîte humide pendant une nuit.

Jour 4 :

*Etape 1* - Vider et laver les plaques 4 fois avec du WB ; mettre dans chaque puits 150µl de BB, fermer et laisser incuber 1 heure à température ambiante dans une boîte humide.

*Etape 2* - Laver les plaques 1 fois avec du WB et mettre par puits 100µl de conjugué en laissant vide le dernier puits de la dernière colonne. Laisser incuber 1 heure à température ambiante dans une boîte humide.

*Etape 3* - Laver les plaques 6 fois avec du WB et mettre par puits 100µl de substrat ; placer les plaques immédiatement à l'obscurité pour 30min.

*Etape 4* - Arrêter la réaction colorée en mettant par puits 25 $\mu$ l d'acide sulfurique, et faire la lecture au spectrophotomètre, à 492nm.

*Etape 5* - Evaluer la proportion de moustiques positifs en considérant une densité optique supérieure ou égale à 0,1 comme seuil de positivité.

## ANNEXE V :

### Préparation de tampons et solutions diverses pour les différents tests de laboratoire

#### Tampons pour la recherche de l'antigène circomsporozoïtique

##### PBS 10x :

NaCl = 76,50g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> = 7,24g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 2,10g

H<sub>2</sub>O = Qsp 1000 ml

Ajouter l'eau distillée sur les différents sels ; on obtient une solution à pH 7,2. Si non, ajuster le pH. Cette solution doit être diluée à 1 :10 avant usage.

#### Tampon de blocage Blocking Buffer : BB

PBS contenant 1% de lait et 0,1% d'azide de sodium

Le blocking buffer est utilisé pour saturer les sites de réaction de la plaque, non occupés par l'anticorps monoclonal 2A10.

#### Tampon de lavage Washing Buffer : WB

PBS +0,05% tween 20

#### Tampon de dilution de l'anticorps 2A10 ou tampon de revêtement Coating Buffer : CB

PBS + 0,1% d'azide de sodium.

Il était conseillé de préparer une solution stock cent fois concentrée (10g NaN<sub>3</sub> + 100 ml H<sub>2</sub>O) (puisque l'azide de sodium devait toujours être utilisé à la concentration de 0,1% ) et faire au moment de l'utilisation une dilution 1 : 100.

Ce tampon qui empêchait la dénaturation antigène/anticorps (Ag/Ac) grâce à l'azide de sodium qui évitait la poussée de bactéries dans la solution.

#### Tampon d'élution EB-SPO 10x :

5ml solution stock d'azide de sodium

12.5 mg leupeptine

12.5 mg antipainé

850 unités d'aprotinine

250ul NP 40

Ajouter du PBS 10x jusqu'à 50ml.

En l'absence de leupeptine et d'antipain, il fallait doubler la concentration de l'aprotinine.

Ces produits sont des inhibiteurs des protéases.

Le NP 40 favorise la rupture des cellules et la libération des différents éléments du thorax du moustique.

#### Tampon de dilution de l'anticorps marqué DB-2A10\*

Il s'agissait du tampon de lavage contenant 10% de sérum humain normal c'est à dire sans anticorps contre les sporozoïtes.

NB : Ce tampon ne devait absolument pas contenir de l'azide de sodium, puissant inhibiteur de la peroxydase.

#### Tampon citrate 10x :

Citrate de sodium 0,1M

H<sub>2</sub>O distillée

pH 5,0

#### Solution de peroxyde d'urée :

Préparer une solution stock à 10 % : 5g peroxyde d'urée + 50ml H<sub>2</sub>O distillée

Au moment de l'utilisation, la dilution se faisait au 1 :100 (50µl peroxyde d'urée dans 5ml citrate de sodium)

#### Solution substrat pour la Peroxydase, SUB-PER

2mg orthophénylène-diamine (OPD - SIGMA)

5ml citrate de sodium

50µl peroxyde d'urée

#### Tampons pour l'identification des repas sanguins des moustiques

##### Tampon de dilution du conjugué anti-humain :

Tampon de lavage WB contenant 2% de sérum de cheval et 2% de sérum de porc. Il ne doit absolument pas contenir d'azide de sodium, puissant inhibiteur de la peroxydase.

### Tampon de dilution du conjugué anti-bovin

WB contenant 5% de sérum humain et 5% de sérum de mouton ou de chèvre.

### Tampons pour l'extraction des ADN de moustiques

#### Grind Buffer (GB)

Pour obtenir 100ml de GB, il faut :

1,6ml NaCl 5M = 0.47g

1,7ml EDTA 0.5M = 0.32g

2,4ml TRIS 1M = 0.29g

5ml SDS 10% = 0.5g

90ml H<sub>2</sub>O

Ajuster le pH à 7,5 avec de l'acide chlorhydrique HCl à 36-38%. Autoclaver cette préparation pendant 15 min à 120°C.

Après refroidissement, ajouter 5,5g de saccharose et ajuster le volume à 100ml avec de l'eau distillée.

Conserver au réfrigérateur à + 4°C.

Cette solution permet la rupture des cellules et la libération des différents éléments du moustique.

#### Acétate de Potassium CH<sub>3</sub>COOK

100ml CH<sub>3</sub>COOK 8M = 78,52g

Autoclaver pendant 15 min à 120°C et conserver au réfrigérateur à +4°C..

Cette solution précipite les protéines.

#### Ethanol 70%

Pour obtenir 100ml d'éthanol 70%, il faut :

70ml éthanol 100%

30ml H<sub>2</sub>O

Libère l'ADN des différents sels.

## **Tampons pour électrophorèse :**

### Préparation du gel d'agarose :

Pour 50ml de gel d'agarose 1%, il faut :

100ml TBE 0.5x

1g d'agarose

1,5µl de bromure d'éthide

Mettre l'agarose dans les 100ml de TBE contenus dans une fiole jaugée.

Homogénéiser à l'aide d'un agitateur magnétique en chauffant

Ajouter le bromure d'éthide : cette substance permet la visualisation du cours de l'ADN dans le gel.

NB : le gel d'agarose 1,4% était obtenu en utilisant 1,4g d'agarose au lieu de 1g

### Préparation du TBE 10x

Pour 500ml de TBE 10X, prendre :

54g TRIS Base 89mM,

27,5g acide borique 89mM,

20ml EDTA 0.5M = 4.65g

Agiter en chauffant.

pH 8,0

### Préparation du TBE 0.5x

Pour 500ml TBE 0.5x, prendre :

25ml TBE 10x

475ml H<sub>2</sub>O

Mélanger en secouant la bouteille.

EDTA = Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique,

SDS = Sodium Dodecyl Sulfate

TRIS = [Tris (Hydroxyméthyl) aminométhane].

## ANNEXE VI :

### Protocoles techniques pour l'identification des espèces du complexe *An. gambiae s. l.* par PCR (Scott *et al.*, 1993)

Le matériel utilisé doit être particulièrement propre et est spécialement conçu pour la PCR.

Chaque moustique était écrasé dans un tube Eppendorf de 0,2 ml à l'aide d'une pipette Pasteur à bout arrondi à la flamme. Les différentes solutions étaient prélevées à l'aide de pipettes. La réaction PCR se faisait dans un appareil appelé Personal Cycler™.

#### **1. Extraction de l'ADN**

##### *1.1 Rôle des différents solvants*

L'ADN des moustiques était extrait à l'aide de différents solvants, à chaud et à froid : le Grind Buffer GB permettait la rupture des cellules des moustiques et la libération de leurs différents éléments ; le bain-marie facilitait l'action du GB. L'acétate de potassium précipitait les protéines en laissant l'ADN et l'ARN dans le surnageant ; la glace facilitait l'action de l'acétate de potassium. L'éthanol 100% permettait la précipitation de l'ADN et de l'ARN alors que l'éthanol 70% libérait l'ADN des différents sels cellulaires.

##### *1.2 Protocole*

- Préparer et numéroter des tubes Eppendorf préalablement stérilisés par autoclavage. Mettre dans chacun de ces tubes une tête de moustique à tester et 50µl de Grind Buffer (GB).
- A l'aide de pipettes Pasteur à bouts arrondis, écraser immédiatement l'échantillon s'il était frais, si non, le laisser ramollir 10-15min avant de l'écraser.
- Placer les tubes au bain-Marie à 65°C pendant 30min
- Retirer les tubes et ajouter 7µl d'acétate de potassium par tube en mélangeant très bien. Les placer pendant 30min dans la glace.
- Centrifuger ces tubes à 13 000 tours/min pendant 10min ; transférer le surnageant (qui devrait contenir l'ARN, l'ADN et éventuellement les protéines) de chaque tube dans un autre tube Eppendorf portant le numéro initial. Ajouter 2,5 volumes d'éthanol 100% dans chaque nouveau tube et les placer à -20°C pendant au moins 2 heures.

- Retirer les tubes du congélateur et les centrifuger à nouveau pendant 15min à 13 000 tours/min. Retirer et jeter le surnageant de chaque tube et ajouter sur le précipité 50µl d'éthanol 70%.
- Faire à nouveau une centrifugation pendant 10min à 13 000 tours/min. Verser le surnageant, et faire sécher les tubes en les laissant ouverts.
- Suspender à nouveau l'ADN avec 50µl d'eau distillée stérilisée. Nous obtenons ainsi la solution d'ADN pour la réaction PCR, solution pouvant être conservée au congélateur à -20°C.

## **2. REACTION PCR GA/AR**

### *2.1 Généralités - définition*

La « Polymerase Chain Reaction (PCR) », est une méthode d'amplification enzymatique d'un fragment spécifique d'ADN en utilisant une ADN polymérase thermostable (*Thermus aquaticus* DNA polymerase = Taq DNA polymerase) et des amorces d'ADN dérivées de séquences donnant des fragments cibles (White *et al.*, 1989).

La réaction d'amplification comprenait 3 phases qui se répétaient de façon cyclique 20 à 30 fois :

- La dénaturation de l'ADN,
- La fixation des amorces (primer annealing),
- L'élongation des amorces grâce à la polymérase (polymerase mediated primer extension).

(Paskewitz et Collins, 1990).

### *2.2 Protocole*

Pour n tubes à tester, préparer un mélange pour n+1 tubes composé de: H<sub>2</sub>O, Buffer, MgCl<sub>2</sub>, dNTP, et des amorces UN (universel), GA et AR spécifiques pour *An. gambiae* s.s et *An. arabiensis*. Par tube il fallait :

- 5,13µl H<sub>2</sub>O
- 1µl Buffer (10x)
- 1µl MgCl<sub>2</sub>
- 0,2µl dNTP (10mM)
- 0,2µl UN
- 0,2µl GA
- 0,2µl AR
- 0,07µl Taq polymérase

Soit un total de 8µl par tube auxquels 2µl de solution d'ADN extrait sont ajoutés.

Les tubes ainsi préparés passaient ensuite dans le personal cycler où se déroulaient les différentes phases de la réaction :

- Dénaturation de l'ADN: 30 cycles de 30 secondes à 94°C
- Fixation des amorces : 30 cycles de 30 secondes à 50°C
- Elongation des amorces grâce à la polymérase : 30 cycles de 30 secondes à 72°C.

### **3. REACTION PCR Mo/SA**

La distinction des formes chromosomiques de *An. gambiae s.s.* se faisait également après une réaction PCR des ADN extraits en présence d'amorces spécifiques R5, R3, Mopint, B/Sint.

Par tube il fallait :

- 1,8µl H<sub>2</sub>O
- 1µl Buffer (10x)
- 1µl dNTP
- 1µl R5
- 1µl R3
- 1µl Mopint
- 1µl B/S int
- 0,2µl Taq polymérase

Soit un total de 9µl par tube auxquels 1µl de solution d'ADN extrait était ajouté. Les tubes ainsi préparés passaient ensuite dans le personal cycler où se déroulaient les différentes étapes de la réaction :

- Etape initiale : 25 cycles de 10min à 94°C
- Dénaturation de l'ADN : 25 cycles de 30min à 94°C,
- Fixation des amorces : 25 cycles de 30min à 63°C,
- Elongation des amorces grâce à la polymérase : 25 cycles de 30min à 72°C

NB : Après la réaction PCR, les préparations peuvent être conservées au réfrigérateur (+ 4°C) jusqu'au moment de l'électrophorèse.

### **4. ELECTROPHORESE**

L'identification de l'ADN se faisait après sa migration sur un gel d'électrophorèse à 1% d'agarose pendant 30 min à 120 volts pour la distinction entre *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis* (Agarose A. 0169 SIGMA). S'il s'agissait de mettre en présence les formes chromosomiques Mopti ou Savanna, la migration de l'ADN était réalisée sur gel d'agarose à

1,4% pour 45min à 80 volts. La visualisation du déplacement de l'ADN était effectuée grâce au bromure d'éthide additionné dans le gel. La lecture était réalisée sur un appareil émettant des rayons UV (Trans illuminator, Biometra TI 1), en présence de témoins négatifs (le blanc), *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis*, témoins positifs pour la PCR GA/AR, ou *An gambiae mopti* et *An. gambiae savanna*, témoins positifs s'il s'agissait de la PCR Mo/SA.

Séquence des amorces utilisées pour la PCR GA/AR (Scott *et al.*, 1993 ; Life Technologies. GIBCO BRL Custom Primers)

- Amorce universelle UN : GTG TGC CCC TTC CTC GAT GT poids moléculaire = 6374,0 µg/umole.
- Amorce spécifique à *An. gambiae s. s.* (GA) : CTG GTT TGG TCG GCA CGT TT poids moléculaire = 6469,0 ug/umole
- Amorce spécifique à *An. arabiensis* (AR) : AAG TGT CCT TCT CCA TCC TA poids moléculaire = 6326,0 µg/umole

Séquences des amorces utilisées pour la PCR MO/SA (Life Technologies. GIBCO BRL Custom Primers)

- Amorce MOPINT : GCC CCT TCC TCG ATG GCA T poids moléculaire = 6021,8 µg/umole
- Amorce B/SINT : ACC AAG ATG GTT CGT TGC poids moléculaire = 5803,6 µg/umole
- Amorce R5 : GCC AAT CCG AGC TGA TAG CGC poids moléculaire = 6756,2 µg/umole
- Amorce R3 : CGA ATT CTA GGG AGC TCC AG poids moléculaire = 6465,0 µg/umole

## SUMMARY

The impact of insecticide treated curtains (ITCs) on malaria vectors belonging to the *An. gambiae s.l.* complex has been studied in a Sudanese savannah area in Burkina Faso. One hundred and fifty eight villages with population of about 100,000 inhabitants were involved in the study. The area was split into 16 clusters of about 10 villages each. Clusters were paired according to ecological factors, population size and baseline mortality, and then one cluster in each pair was randomly selected to received ITCs in 1994. The 8 remaining clusters were kept as controls and received intervention in 1996. After the control clusters received intervention in 1996, 8 villages not using ITC and located near the study area were identified as controls. From 1993 to 1999, longitudinal surveillance of entomological indices was conducted each year in 4 sentinel villages over six months during the high malaria transmission period. From 1995 to 1999, besides the longitudinal entomological surveillance, cross-sectional entomological surveys have been conducted during the peak of malaria transmission in September in 32 to 84 villages.

The results showed important reduction of vector aggressivity subsequently to the use of ITCs, by at least 99% in ITC protected houses and 67% in houses without ITC. Outdoors, this reduction was of at least 50%. The proportion of females infected by *P. falciparum* was reduced by at least 70% in the villages. Malaria transmission was reduced by more than 90% indoors and about 50% outdoors. The length of malaria transmission period appeared to be moderately shortened. Over the study period we did not record any evidence of change in mosquito behaviour that could vanify the impact of the intervention measure. The peak of vector aggressivity still occurs in the second half the night.

We observed a « mass killing » of the intervention on the mosquito population, with marked reduction of vector aggressivity and sporozoite rate in villages located in the middle of the intervention area in comparison with those situated on the edge of the intervention area. ITCs seem to reduce the relative proportion of *An. gambiae s.l.* immediately after the start of the intervention. *An. gambiae s.s.* represented for more than 90% by the Mopti chromosomal form, and *An. arabiensis* were the most frequent species of the *An. gambiae s.l.* complex encountered in the study area. *An. arabiensis* appeared to be more sensitive to permethrin than *An. gambiae s.s.*. *An. gambiae s.s.* was a better vector for *Plasmodium falciparum* than *An. arabiensis*.

The efficacy of ITC suggest that ITCs are preventive tools against mosquito bites and malaria transmission.

Key words: malaria, *An. gambiae s.l.* complex, insecticide treated material, vectors control.

## RESUME

L'impact des rideaux imprégnés d'insecticide (RII) sur les vecteurs du paludisme appartenant au complexe *An. gambiae s.l.* a été étudié dans une zone de savane soudanienne du Burkina Faso. L'étude a concerné 158 villages d'une population d'environ 100 000 habitants, divisés en 16 secteurs d'une dizaine de villages chacun. Après avoir apparié les secteurs selon les facteurs écologiques, la taille de la population et la mortalité de base, un tirage au sort a été effectué à l'intérieur de chaque paire pour assigner le traitement. Huit secteurs ont ainsi reçu les RII en 1994 pendant que les 8 autres, utilisés comme témoin, ont reçu l'intervention en 1996. Huit autres villages situés non loin de la zone d'étude et n'étant pas protégés par les RII ont alors été identifiés pour servir de contrôle.

Une surveillance entomologique longitudinale a été conduite dans 4 villages sentinelle de 1993 à 1999 pendant au moins 6 mois de la période de haute transmission chaque année. A partir de 1995 et parallèlement à l'enquête longitudinale, une enquête entomologique transversale a été effectuée chaque année au mois de septembre (pic de la transmission) dans 32 à 84 villages.

Les résultats montrent une importante réduction des densités agressives suite à l'introduction des RII, d'au moins 99% à l'intérieur des cases protégées et 67% dans les cases sans RII. A l'extérieur des cases, cette réduction était d'au moins 50%. La proportion de femelles hébergeant *P falciparum* a été réduite d'au moins 70% dans les villages. La transmission du paludisme a été réduite de plus de 90% à l'intérieur des cases protégées et d'environ 50% à l'extérieur. La saison de transmission a été modérément écourtée. Aucune indication d'une sélection de moustiques qui préféreraient piquer à l'extérieur des cases n'a été observée pendant toute la durée de l'intervention et leur agressivité maximale est toujours située dans la deuxième moitié de la nuit.

Nous avons observé un "effet de masse" de l'intervention sur la population vectorielle, avec des réductions plus marquées de l'agressivité et de l'indice sporozoïtique dans les villages situés au cœur de la zone d'intervention par rapport à ceux situés à la périphérie. Les RII semblent réduire la proportion relative de *An. gambiae s.l.* immédiatement après l'intervention.

*An. gambiae s.s.* représenté à plus de 90% par la forme chromosomique Mopti, et *An. arabiensis* sont les espèces du complexe *An. gambiae s.l.* rencontrées dans cette zone. *An. arabiensis* apparaissait comme plus sensible à la perméthrine que *An. gambiae s.s.* et se gorgeait plus sûr bovins lorsqu'il n'avait pas pris un repas de sang humain. *An. gambiae s.s.* était un meilleur vecteur de *Plasmodium falciparum* que *An. arabiensis*.

L'efficacité et la rémanence, que nous avons obtenues pour les RII indiquent qu'ils constituent une bonne mesure de protection contre les moustiques d'une part et contre la transmission du paludisme d'autre part.

Mots clefs : paludisme, complexe *An. gambiae s.l.*, matériaux imprégnés d'insecticide, contrôle des vecteurs.