

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET DE  
L'INNOVATION

SECRETARIAT GENERAL

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE  
DE BOBO-DIOULASSO

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

FORMATION DOCTORALE EN  
PARASITOLOGIE MEDICALE



BURKINA FASO  
Unité-Progrès -Justice

Année académique: 2015-2016.

Mémoire N°18

Etude de la dynamique entomologique de la transmission de  
*Wuchereria bancrofti*, dans la région du Centre-Est, Burkina Faso.

## MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le 29/07/2016

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

Par

**BAMOGO Rabila**

Directeur du mémoire :

M. Roch K. DABIRE

(Directeur de Recherche, IRSS)

Co-directeur :

M. Ibrahim SANGARE

(Maître Assistant, IN.S.SA/UPB)

JURY

Président :

M. Tinga Robert GUIGUEMDE, Professeur Titulaire.

Membres :

M. Adrien Marie Gaston BELEM, Professeur Titulaire.

M. Ibrahim SANGARE, Maître Assistant.



# SOMMAIRE

## Sommaire

|  |      |
|--|------|
| DEDICACES .....  | iii  |
| REMERCIEMENTS.....   | iv   |
| LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....  | vi   |
| LISTE DES FIGURES.....   | viii |
| LISTE DES TABLEAUX .....   | viii |
| RESUME .....   | ix   |
| ABSTRACT .....   | x    |
| I. INTRODUCTION .....  | 1    |
| II. GENERALITES SUR LA FILARIOSE LYMPHATIQUE.....  | 3    |
| II.1. Définition.....  | 3    |
| II.2. Historique.....  | 3    |
| II.3. Agent pathogène .....  | 3    |
| II.4. Cycle biologique du parasite .....   | 4    |
| II.4.1. Chez l'hôte définitif (Homme): .....   | 4    |
| II.4.2. Chez l'hôte intermédiaire (anophèle femelle) : .....                               | 4    |
| II.5. Les vecteurs .....   | 5    |
| II.6. Cycle du développement des <i>Anopheles</i> .....                                    | 6    |
| II.7. Répartition géographique.....  | 6    |
| II.7. Xénosurveillance de la filariose lymphatique .....                                   | 8    |
| II.8. Programme mondial d'élimination de la filariose lymphatique et son application ..... | 8    |
| III. OBJECTIFS .....   | 10   |
| III.1. Objectif général.....   | 10   |
| III.2. Objectifs spécifiques .....   | 10   |
| IV. METHODOLOGIE .....   | 11   |
| IV.1. Site d'étude .....   | 11   |
| IV.2. Type et période d'étude .....  | 12   |
| IV.3. Collecte des moustiques.....   | 12   |
| IV.4. Analyse des échantillons.....  | 13   |
| IV.4.1. Analyse des échantillons sur le terrain .....                                      | 13   |
| IV.4.2. Analyse des échantillons au laboratoire .....                                      | 14   |
| IV.5. Analyse des données.....   | 15   |
| IV.6. Considérations éthiques.....   | 16   |
| V. RESULTATS .....   | 17   |
| V.1. Distribution globale de la population vectorielle par localité.....                   | 17   |
| V.2. Distribution de la population anophélienne par localité et par mois .....             | 17   |
| V.3. Distribution globale des espèces <i>Anopheles gambiae</i> s.l. par localité .....     | 18   |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>V.4. Comportement de la population vectorielle par localité.....</b>   | <b>19</b> |
| V.4.1. Répartition de la population anophélienne en fonction de leur état de réplétion.....   | 19        |
| V.4.2. Répartition de la population anophélienne en fonction de leur comportement de piqûre<br>(endophagie/exophagie) .....                               | 20        |
| V.4.3. Préférence trophique.....  | 21        |
| V.4.4. Taux de parturité d' <i>Anopheles gambiae s.l.</i> .....   | 22        |
| V.4.5. Dynamique horaire de piqûre des vecteurs par localité.....   | 23        |
| V.4.6. Taux d'infection des vecteurs à <i>W. bancrofti</i> .....  | 26        |
| V.4.7. Taux d'agressivité et taux d'inoculation entomologique des vecteurs .....  | 26        |
| V.4.8. La distribution des gènes de résistance aux pyréthriinoïdes chez les populations <i>An. gambiae</i><br><i>s.l.</i> .....                           | 27        |
| .....   | 29        |
| <b>VI. DISCUSSION .....</b>   | <b>29</b> |
| <b>VI.1. L'intérêt de la surveillance entomologique.....</b>  | <b>29</b> |
| <b>VI.2. La diversité de la faune vectorielle en genre.....</b>   | <b>29</b> |
| <b>VI.3. La diversité de la faune anophélienne .....</b>  | <b>29</b> |
| <b>VI.4. Comportement de la faune anophélienne, résistance aux pyréthriinoïdes chez les populations</b><br><i>An. gambiae s.l.</i> .....                  | <b>29</b> |
| <b>VI.5. Indice microfilarien .....</b>   | <b>31</b> |
| <b>VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>ANNEXES.....</b>   | <b>a</b>  |
| <b>Annexe 1: Protocole d'extraction d'ADN au CTAB 2%, Myriam et Cécile, avril 2003.....</b>   | <b>a</b>  |
| <b>Annexe 2 : Détection du gène SINE 200X 6.1 locus, Santolamazza et al., 2008.....</b>   | <b>a</b>  |
| <b>Annexe 3 : Diagnostic de la mutation <i>kdr</i> de l'Afrique de l'Ouest, Martinez-Torres D et al., 1998</b><br>.....                                   | <b>b</b>  |
| <b>Annexe 4 : Diagnostic moléculaire de <i>W. bancrofti</i> .....</b>   | <b>c</b>  |
| <b>Annexe 5 : ELISA repas de sang : Technique Didier Fontenille, d'après Beier JC et al. (et</b><br><b>Sarthou pour la coloration) décembre 1998.....</b> | <b>d</b>  |

## **DEDICACES**

Je dédie ce mémoire :

A **Dieu** le très **miséricordieux** et le tout puissant créateur pour le souffle de vie et de grâce abondante.

A notre très cher et regretté **père Nébinhidé BAMOGO**, votre départ prématuré nous a laissé des souvenirs inoubliables, que votre âme repose en paix papa !

A notre très chère **mère Togo Paradbem**.

Vous nous avez donné une éducation exemplaire. Mère, vous avez su nous apprendre à être courageux, sincère et respectueux envers les autres. Sachez que ce travail est le fruit des grands sacrifices que vous avez consentis. Vous resterez pour nous une mère exemplaire et inoubliable ;

A ma tendre **épouse Zoénabo KAFANDO**

Merci pour ta patience ; merci pour ton attention et merci surtout pour ces sacrifices d'endurances consentis à mon égard. Ma chérie, les mots me manquent pour te dire que je t'aime.

A ma merveille adorable **petite fille Bachira, porteuse de bonne nouvelle**

Tu es ma fierté, tu es mon amour, tu es ma joie. Puisse Dieu nous accompagner pour une vie pleine de bonheur et du succès.

A toute la **famille BAMOGO**.

Merci pour vos encouragements et vos soutiens. Ce travail doit être une fierté familiale.

## REMERCIEMENTS

Nous ne saurons présenter ce mémoire sans adresser nos sincères remerciements à toutes les personnes qui, à des degrés divers, ont contribué à la réalisation de ce travail :

Au **Professeur Tinga Robert GUIGUEMDE, Professeur titulaire, Doyen Honoraire de l'IN.S.SA et fondateur de la formation doctorale de parasitologie, éminent spécialiste en parasitologie** qu'il a enseignée à d'innombrables promotions d'étudiants dont je faisais partie. Merci pour la formation reçue à vos côtés !

Nous exprimons notre immense gratitude au **Docteur Kounbobr Roch DABIRE, Directeur de recherche, Directeur Régional de l'Ouest de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS-DRO)**, pour m'avoir accueilli dans son institut pour cette étude ! Vous êtes le directeur de ce mémoire. Malgré vos nombreuses occupations, vous avez accepté de nous encadrer dans le cadre de ce mémoire. Nous saluons avec gratitude, votre rigueur scientifique que vous avez démontrée tout au long de ce travail à travers vos conseils, critiques et encouragements. Merci de nous avoir intégré dans votre équipe d'entomologie médicale!

Au **Dr Ibrahim SANGARE, Maître Assistant à l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé (IN.S.SA/UPB)**, co-directeur de ce mémoire, je vous remercie pour tous les efforts personnels et les moyens mis à ma disposition pour la réalisation de ce mémoire. Depuis ma licence votre confiance à mon égard a été un véritable générateur de motivation et dont les résultats sont là aujourd'hui. Travailler à votre côté signifie rester en famille, je retiens de vous un encadreur dont les qualités professionnelles et morales suscitent le respect et l'admiration. C'est avec un grand plaisir que je vous témoigne toute ma reconnaissance pour m'avoir encadré avec fermeté comme un maître et guidé avec amour comme un père. Je vous remercie pour tout, mon très cher maître!

**Aux chercheurs de l'IRSS :**

**Docteur Jean-Bosco OUEDRAOGO, Directeur de recherche, Dr Zékiba TARNAGDA, Dr Halidou TINTO, Dr Abdoulaye DIABATE, Dr Thierry BALDET, Dr Aristide HIEN, Dr DA Frédéric, Dr Moussa NAMOUNTOUGOU, Dr Simon SAWAD OGO, M. Bienven u YAMEOGO, M. N'DO Sévérin, M. Koama BAYILI, M. Serge PODA, M. François HIEN,** Chacun de vous a donné le maximum de lui pour m'aider chaque fois que j'étais en nécessité. Les mots me manquent pour vous remercier de votre disponibilité !

Au **MCA Sanata BAMBA, Dr Mamadou CISSE** et au **Dr Constant SIRIMA** pour toutes les connaissances scientifiques que vous m'avez transmises avec amour et pédagogie!

L'ensemble des techniciens de l'IRSS-DRO et du Centre MURAZ : **Ali OUARI, Richard BATIONO, Abdoulrasmané KABRE, Abdoulaye OUATTARA, Souleymane SANOU, Roger SANOU, Sougrinoma ZOUNGRANA, Arzouma DIASSO, Hamidou TRAORE, Séni**

**ILBOUDO, Oumarou ILBOUDO, Hyacinthe GUEL, Edouard SANOU, Stéphane SOMDA,**

C'est le lieu de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi ! Bonne carrière professionnelle à vous!

Je tiens également à remercier :

Mademoiselle **Sanata COULIBALY**, Tu as répondu présente et avec enthousiasme à mes appels pour me servir le long de ce travail pendant nos analyses PCR. Je te souhaite plein de succès dans la vie !

A mon très cher grand frère **El Hadj Mady BAMOGO** et ses deux femmes, **Hadja Kadissa BANISSI** et **Mariam SAWADOGO** pour leur contribution inestimable dans la réalisation de ce travail !

Une mention spéciale à mon très cher grand frère **Foulazou TIAWARA** et à mon « frère de sang » **Marie Edgard Aimé KABORE** pour leurs précieux conseils et encouragements. Je vous souhaite une bonne carrière professionnelle !

Mes promotionnaires de Master : **M. Alamoussa SOULAMA, M. Parfait OUATTARA** et **M. Mamane GARBA**, J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler en votre compagnie !

A la famille **BOUDO**, particulièrement **M. Aristide BOUDO** et son épouse **Bouehin Awa BENE** pour leur contribution financière inestimable dans la réalisation de ce mémoire !

Je tiens à remercier toute la **population de Rengha, Tangonko et Tensobtenga** particulièrement **M. Ali SANDWIDI, M. Issiaka DIALGA** et **M. Christophe DONDEBZANGA** pour le travail remarquable qu'ils ont réalisé et pour leur accueil chaleureux au sein de leur village !

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont les noms n'ont pas été cités ici, qu'ils trouvent en ce travail ma reconnaissance.

Nous tenons à remercier vivement notre Maître le **Pr. Adrien Marie Gaston BELEM** pour avoir accepté de siéger dans ce jury afin d'apporter sa grande expertise sur les MTN.

Ce travail a bénéficié d'un financement de centre *of Neglected Tropical Diseases (CNTD)* à Liverpool et d'un accompagnement technique du Dr Benjamin Koudou de CNTD Liverpool.

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

|                    |   |
|--------------------|---|
| <b>ADN :</b>       | Acide Désoxyribonucléique   |
| <b>An. :</b>       | <i>Anopheles</i>  |
| <b>B. :</b>        | <i>Brugia</i>   |
| <b>BET:</b>        | Bromure d'Ethidium  |
| <b>bp:</b>         | Base paire  |
| <b>cm:</b>         | Centimètre  |
| <b>CSH :</b>       | Capture sur Homme (ou sur appât humain)   |
| <b>CSPS :</b>      | Centre de Promotion Sociale de Santé  |
| <b>CTAB :</b>      | Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide  |
| <b>CT :</b>        | Couverture Thérapeutique  |
| <b>°C:</b>         | Degré Celsius   |
| <b>DEC :</b>       | Diéthylcarbamazine  |
| <b>dNTP :</b>      | Désoxy Ribonucléotides TriPhosphates  |
| <b>ELISA :</b>     | Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay  |
| <b>FL :</b>        | Filariose Lymphatique   |
| <b>F(R) :</b>      | Fréquence allélique   |
| <b>h:</b>          | heure   |
| <b>IC :</b>        | Intervalle de Confiance   |
| <b>Im :</b>        | Indice microfilarien  |
| <b>IN.S.SA:</b>    | Institut Supérieur des Sciences de la Santé   |
| <b>IRSS :</b>      | Institut de Recherche en Science de la Santé  |
| <b>Kg:</b>         | kilogramme  |
| <b>kdr :</b>       | Knockdown résistance  |
| <b>kdr-Ouest :</b> | Mutation <i>Kdr</i> la plus fréquente en Afrique de l'Ouest                           |
| <b>L:</b>          | Longueur  |
| <b>L1 :</b>        | Larve de stade 1  |
| <b>L2 :</b>        | Larve de stade 2  |
| <b>L3 :</b>        | Larve de stade 3  |
| <b>Leu-Phe :</b>   | Leucine-phénylalanine (Leucine-Fenylalanine en anglais donnant le <i>Kdr L1014F</i> ) |
| <b>m :</b>         | Densité anophélienne  |
| <b>MCA :</b>       | Maître de conférences agrégé  |
| <b>ma/Ta :</b>     | Taux d'agressivité ou densité anophélienne pour l'Homme                               |
| <b>mf :</b>        | Microfilaire  |
| <b>MgCl2 :</b>     | Chlorure de Magnésium   |

|                |   |
|----------------|---|
| <b>MGG:</b>    | May Grünwald Giemsa   |
| <b>mg:</b>     | Milligramme   |
| <b>mm:</b>     | Millimètre  |
| <b>mM:</b>     | Mili molaire  |
| <b>MILDA :</b> | Moustiquaire Imprégnée à Longue Durée d'Action                    |
| <b>MTN :</b>   | Maladie Tropicale Négligée  |
| <b>OMS :</b>   | Organisation Mondiale de la Santé                                 |
| <b>PCR :</b>   | Polymerase Chain Reaction   |
| <b>PEFL :</b>  | Programme d'Elimination de la Filariose Lymphatique               |
| <b>PHN :</b>   | Nombre de Piqûre par Homme et par Nuit                            |
| <b>PID :</b>   | Pulvérisation Intra Domiciliaire                                  |
| <b>PNEFL :</b> | Programme National pour l'Elimination de la Filariose Lymphatique |
| <b>PNMTN :</b> | Programme National des Maladies Tropicales Négligées              |
| <b>RR :</b>    | Génotype homozygote résistant                                     |
| <b>RS :</b>    | Génotype hétérozygote   |
| <b>s.l. :</b>  | <i>Sensus lato</i> (sens large)                                   |
| <b>SS :</b>    | Génotype homozygote sensible                                      |
| <b>TDM :</b>   | Traitement de Masse   |
| <b>TDR :</b>   | Test de Diagnostic Rapide du paludisme                            |
| <b>TIE :</b>   | Taux d'Inoculation Entomologique                                  |
| <b>µm:</b>     | micron  |
| <b>UI:</b>     | Unité Internationale  |
| <b>UV:</b>     | Ultra-violet  |
| <b>UPB:</b>    | Université Polytechnique <i>de</i> Bobo-Dioulasso                 |
| <b>W.b. :</b>  | <i>Wuchereria bancrofti</i>                                       |
| <b>WHA :</b>   | <i>World Health Assembled</i>                                     |

## **LISTE DES FIGURES**

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1:</b> Microfiliare de <i>W.bancrofti</i> colorée au MGG .....                                      | 4  |
| <b>Figure 2:</b> Cycle biologique de <i>Wuchereria bancrofti</i> ; modifié de Thérèse Duriez,.....            | 5  |
| <b>Figure 3:</b> Cycle biologique des anophèles.....  | 6  |
| <b>Figure 4:</b> Répartition géographique du genre <i>Wuchereria</i> (CD Rom).....                            | 7  |
| <b>Figure 5:</b> Cartographie de la transmission de la filariose lymphatique au Burkina Faso en 2014<br>..... | 11 |
| <b>Figure 6:</b> Méthode de collecte des moustiques par capture sur homme.....                                | 14 |
| <b>Figure 7:</b> Drap blanc étalé sur le pavement pour récupérer les moustiques.....                          | 13 |
| <b>Figure 8:</b> Dynamique horaire de piqûre des vecteurs à l'intérieur des maisons.....                      | 24 |
| <b>Figure 9:</b> Dynamique horaire de piqûre des vecteurs à l'extérieur des maisons.....                      | 25 |

## **LISTE DES TABLEAUX**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I:</b> Distribution globale de la population vectorielle par localité et par mois.....                       | 17 |
| <b>Tableau II:</b> Distribution globale de la population anophélienne par localité.....                                 | 18 |
| <b>Tableau III:</b> Distribution globale des espèces <i>d'Anopheles gambiae s.l.</i> par localité et par mois.<br>..... | 19 |
| <b>Tableau IV:</b> Distribution globale de la population anophélienne en fonction de leur état de<br>réplétion.....     | 20 |
| <b>Tableau V:</b> Distribution de la population anophélienne en fonction de leur comportement de<br>piqûre.....         | 21 |
| <b>Tableau VI:</b> Préférence trophique des moustiques par localité .....   | 22 |
| <b>Tableau VII:</b> Âge physiologique des moustiques par localité et par mois .....                                     | 23 |
| <b>Tableau VIII:</b> Indice microfilarien des vecteurs à <i>W. bancrofti</i> .....                                      | 26 |
| <b>Tableau IX:</b> Taux d'agressivité et taux d'inoculation entomologique <i>d'Anopheles gambiae s.l.</i><br>.....      | 27 |
| <b>Tableau X:</b> Les fréquences alléliques de la mutation <i>kdr L1014F</i> par localité.....                          | 28 |

RESUME/ABSTRACT

## **RESUME**

**Titre :** Etude de la dynamique entomologique de la transmission de *Wuchereria bancrofti*, dans la région du Centre-Est, Burkina Faso.

La filariose lymphatique (FL) encore appelée éléphantiasis, est l'une des maladies tropicales négligées graves en voie d'élimination au Burkina Faso après la mise en place d'une distribution à base communautaire de l'ivermectine et de l'albendazole. Il s'agit actuellement de la surveillance et du monitoring de cette campagne de lutte.

Notre étude entomologique faite en août 2014 et septembre 2015 dans la région du Centre-Est sur 3 sites sentinelles (Rengha, Tangonko et Tensobtenga) consistait à évaluer la transmission de la filariose lymphatique et d'étudier les indicateurs entomologiques associés. A cet effet, deux méthodes de collectes des moustiques (capture sur homme et récolte de la faune résiduelle par pulvérisation intra domiciliaire) ont été utilisées. Les vecteurs ont été identifiés morphologiquement et les spécimens d'*An. gambiae s.l* par PCR. L'origine du repas de sang a été déterminée par analyse ELISA et le taux d'infection par PCR. Le calcul de l'indice microfilarien a été fait par la méthode de *poolscreen*.

Nos résultats ont montré que la Capture Sur Homme était productive par rapport à la collecte de la faune résiduelle avec une nette prédominance d'*An. gambiae s.l*. Les PCR diagnostiques ont montré qu'*An. coluzzii* et *An. gambiae* étaient les principales espèces infectées par *W. bancrofti* avec une forte agressivité (82,3%) et une anthropophilie élevée (84,57%). Le taux d'infection des vecteurs était nul en 2014. Par contre, en 2015, nous avons trouvé 1 pool positif sur 10 testés à Tensobtenga, soit une prévalence globale de 0,16 % IC [0,005-0,861]. Une forte fréquence du gène *kdr L1014F* a été observée à plus de 80% pour *An. coluzzii* et *An. gambiae* pouvant compromettre l'efficacité de l'utilisation des MILDA.

Cette étude témoigne de l'importance d'associer les études entomologiques aux études parasitologiques pour comprendre l'épidémiologie de la filariose lymphatique et surtout pour la surveillance et les décisions d'arrêt du traitement de masse.

**Mots clés :** Filariose lymphatique, Xénosurveillance, *An. gambiae s.l.*, *W. bancrofti*, Centre-Est, Burkina Faso.

## ABSTRACT

**Title:** A Study of the entomological dynamics of *Wuchereria bancrofti* transmission in East Central Burkina Faso.

Lymphatic filariasis (LF), also known as elephantiasis, is one of the major neglected tropical diseases being eliminated in Burkina Faso after the establishment of a community-based distribution of ivermectin and albendazole. This current survey is about the supervision and monitoring of this campaign.

Our entomological study in August 2014 and September 2015 in the Central East Area in 3 test sites (Rengha, Tangonko and Tensobtenga) was to evaluate the transmission of the lymphatic filariasis and study the related entomological indicators.

To this end, two mosquito collection methods were used: (Human landing collection and pyrethrum spray sheet collection). The vectors were identified morphologically as well for *An. gambiae s.l.* specimens by PCR. The origin of the blood meal was determined by ELISA Test and the infection rate by PCR. The calculation of the microfilaria index was done by the *Poolscreen* method.

Our results showed that the capture on man was productive as regard to the collection of waste wildlife with a clear predominance of *An. gambiae s.l.* The PCR diagnostics showed that *An. coluzzii* and *An. gambiae* were the main sub species infested by bancroftian with strong aggressiveness (82.3%) and high cannibalism (84.57%). The vectors infection rate was zero in 2014. On the other hand, in 2015, we found one positive pole of 10 tested in Tensobtenga, so a prevalence of 0,16 % IC [0,005-0,861]. A high frequency of the *kdr* L1014F gene was observed in over 80% for *An. coluzzii* and *An. gambiae* which could compromise the effectiveness of the use of Long Lasting Insecticide-treated nets.

This study demonstrates the importance of associating entomological studies with parasitological studies to understand the epidemiology of lymphatic filariasis and especially for its monitoring and the decisions to stop was treatment.

**Keywords:** Lymphatic filariasis, Xenomonitoring, *An. gambiae s. l.*, bancroftian, Centre-East, Burkina Faso.

# INTRODUCTION

## I. INTRODUCTION

La filariose lymphatique (FL) est due à une infection par des nématodes (vers ronds) de la famille des *Filariidae* dont 3 espèces sont responsables de la pathologie chez l'Homme. *Wuchereria bancrofti*, qui est responsable de 90% des cas, est surtout répandue en Afrique. Les autres espèces, *Brugia malayi* et *B. timori*, qui sont à l'origine de la plupart des cas restants, sont répandues en Asie du Sud-Est et dans les Îles Pacifiques. Le parasite est transmis à l'Homme par différentes espèces de moustiques, dont celles des genres *Culex* et *Aedes* pour l'espèce *W.b. pacifica*, largement répandues dans les zones urbaines et semi-urbaines; *Anopheles* pour l'espèce *W. bancrofti*, essentiellement présente dans les zones rurales, et du genre *Mansonia* pour *Brugia sp* (1,2).

Les microfilaires vivent dans le sang avec une périodicité nocturne (*W. bancrofti* et *B. malayi*) ou subpériodique diurne (*W. b. pacifica*). La pathogénie des manifestations cliniques est d'ordre mécanique (obstruction des voies lymphatiques aboutissant à l'hydrocèle et l'éléphantiasis), et d'ordre immunologique (réactions inflammatoires). Les vers adultes logent dans le système lymphatique et perturbent le système circulatoire. Ils ont une longévité de 6 à 8 ans et, au cours de leur vie, produisent des millions de microfilaires qui circulent dans le sang. En Afrique de l'Ouest, le vecteur majeur de *W. bancrofti*, espèce parasitaire présente au Burkina Faso, est *Anopheles gambiae s.l.* et secondairement *An. funestus* (3,4).

La FL encore appelée éléphantiasis, est classée parmi les maladies tropicales graves mais négligées (MTN : Maladies Tropicales Négligées). Actuellement, plus de 1,4 milliard de personnes dans 73 pays dont le Burkina Faso sont menacées par la maladie. Généralement contractée dans l'enfance, cette infection provoque des dommages non apparents dans le système lymphatique. Les manifestations visibles, douloureuses et gravement défigurantes de la maladie, à savoir le lymphœdème, l'éléphantiasis et la tuméfaction du scrotum, n'apparaissent que plus tard dans la vie entraînant des incapacités permanentes. Les sujets atteints ne souffrent pas uniquement d'incapacités physiques; ils sont également touchés par des troubles mentaux, des problèmes sociaux et financiers, qui sont autant des causes de stigmatisation et de pauvreté dont les pertes économiques sont estimées à environ 30% du revenu annuel par personne malade (5). Ainsi, depuis 2000, l'OMS demande de réduire les incapacités causées par la filariose lymphatique. C'est le 2<sup>e</sup> élément de la stratégie du programme mondial pour l'élimination des filarioses lymphatiques (6).

On estime que, dans le monde, 25 millions d'hommes sont atteints de maladies génitales et que plus de 15 millions de personnes souffrent de lymphœdème. Cette situation préoccupante fait que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) considère cette affection comme l'une des priorités du programme spécial de recherche et de formation concernant les maladies tropicales

négligées et a mis en place, depuis 2000 un programme mondial pour son élimination (7,8). Ainsi, la résolution WHA50.29 de l'Assemblée Mondiale de la Santé adoptée en mai 1997 a appelé instamment les Etats membres à éliminer la filariose lymphatique en tant que problème de santé publique d'ici 2020.

Au Burkina Faso, une cartographie de la FL réalisée en 2000 a montré que tous les districts sanitaires étaient endémiques. On estime que 100% de la population est à risque avec 182 000 cas d'hydrocèles et 87 000 lymphœdèmes (9,10). La prévalence nationale variait de 2 à 74% selon les districts en 2000, avec une prévalence moyenne de 29% (11). Ces constats ont nécessité la mise en place d'un Programme National pour l'Élimination de la Filariose Lymphatique en 2001 (PNEFL) par le Ministère de la Santé en collaboration avec les partenaires techniques et financiers. Les principales stratégies du programme sont la mise en place de traitements de masse (TDM) à l'ivermectine et l'albendazole, pour une période de 5 ans ou plus, afin de réduire la prévalence de la microfilarémie à un taux inférieur à 1% et la surveillance de l'efficacité du TDM. Selon les données de 2013, des résultats probants ont été obtenus et l'ensemble du territoire national a été couvert avec un taux de couverture thérapeutique (CT) de plus de 80% dans la population cible et chaque district sanitaire a fait au moins 5 tours de traitement (12).

Au Burkina Faso, pour estimer l'impact des stratégies d'élimination, on utilise la surveillance parasitologique sur des prélèvements nocturnes et chez les enfants d'âge compris entre 5 à 15 ans pour calculer la prévalence et la charge microfilarienne. Une des insuffisances dans les activités pour l'élimination de la FL est l'absence de données sur la surveillance entomologique. Selon l'OMS, l'un des critères essentiels dans l'arrêt du TDM est la mesure du taux d'infection des vecteurs. Ce paramètre doit être inférieur à 1% dans les localités ayant plus de 6 tours de TDM (9). La surveillance entomologique permettrait d'expliquer les échecs du programme dans certaines localités. En effet, elle permet d'étudier les caractéristiques des vecteurs et de dégager des stratégies pour une lutte plus efficace. Nous nous proposons donc d'évaluer la transmission entomologique de la filariose lymphatique au Centre-Est, du Burkina Faso et d'étudier les facteurs entomologiques associés.

# GENERALITES

## II. GENERALITES

### II.1. Définition

Les filaires lymphatiques sont des métazoaires triploblastiques à larves sanguicoles appartenant au phylum des *Nematoda*, à la famille des *Filariidae* et aux genres *Wuchereria* et *Brugia* (13). Elles sont responsables d'une parasitose nommée filariose lymphatique communément appelée éléphantiasis qui est considérée comme une maladie tropicale négligée (MTN). La filariose lymphatique humaine est une parasitose du système lymphatique de l'Homme. Elle est transmise à l'Homme par la piqûre infestante des arthropodes de la famille des *Culicidae*. Les filarioses lymphatiques sont très largement répandues dans les zones intertropicales et subtropicales avec une incidence globale plus asiatique qu'africaine (14). En Afrique, la filariose lymphatique est principalement due au parasitisme des vaisseaux lymphatiques par *Wuchereria bancrofti*.

### II.2. Historique

Les premières microfilaires de *Wuchereria bancrofti* autrefois connues sous les noms *Filaria sanguinis hominis*, *Filaria bancrofti*, *Filaria nocturna* furent observées à Paris en 1863 par DEMARQUAY (chirurgien) dans le liquide d'hydrocèle d'un Cubain (14,15).

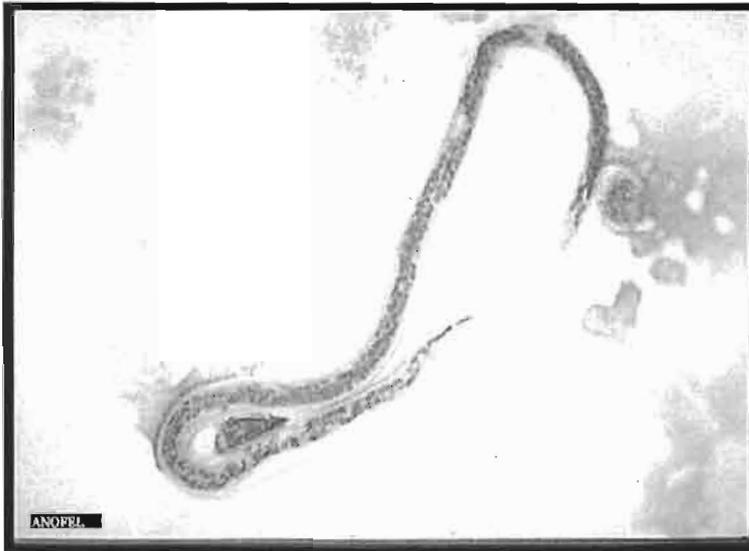
- WUCHERER (1866), au Brésil, isole les microfilaires d'une chylurie.
- En 1876-1877, en Australie, un Médecin Anglais *Bancroft* mettait en évidence des filaires femelles adultes dans une lésion lymphatique du bras ; ces vers ont été après décrits par COBBOLD sous le nom de *Filaria bancrofti* (16,17).
- C'est la première maladie reconnue à transmission vectorielle en 1878 par Sir Patrick MANSON.
- La microfilaire de *Brugia malayi* (*Wuchereria malayi*), espèce orientale, fut décrite par Brug en 1927 et l'adulte fut décrite par Rao et Maplestone en 1940 (16,18).

### II.3. Agent pathogène

Les vers adultes ou macrofilaires sont ronds, filiformes avec des téguments lisses et blancs opalescents. Ils vivent dans le système lymphatique. Le mâle est long d'environ 40 mm sur 0,1 mm de large alors que la femelle a de 10 à 20 cm de long pour un diamètre de 0,24 à 30 mm. Les femelles émettent dans la lymphe des embryons ou microfilaires qui passent ensuite dans le sang (6).

Ces microfilaires munies d'une gaine, mesurent 300 µm de long sur 8 µm de large. Elles sont présentes dans le sang périphérique avec une certaine périodicité:

- périodicité nocturne (22h-02h du matin) pour *Wuchereria bancrofti*;
- absence de périodicité pour la variété *pacifica*;



**Figure 1:** Microfilarie de *W.bancrofti* colorée au MGG (*source* : OMS, 2010)

#### **II.4. Cycle biologique du parasite**

Le cycle du parasite est hétéroxène :

- une phase sexuée, se déroulant chez l'hôte définitif (être humain).
- une phase asexuée qui se déroule chez l'hôte intermédiaire (moustiques femelles).

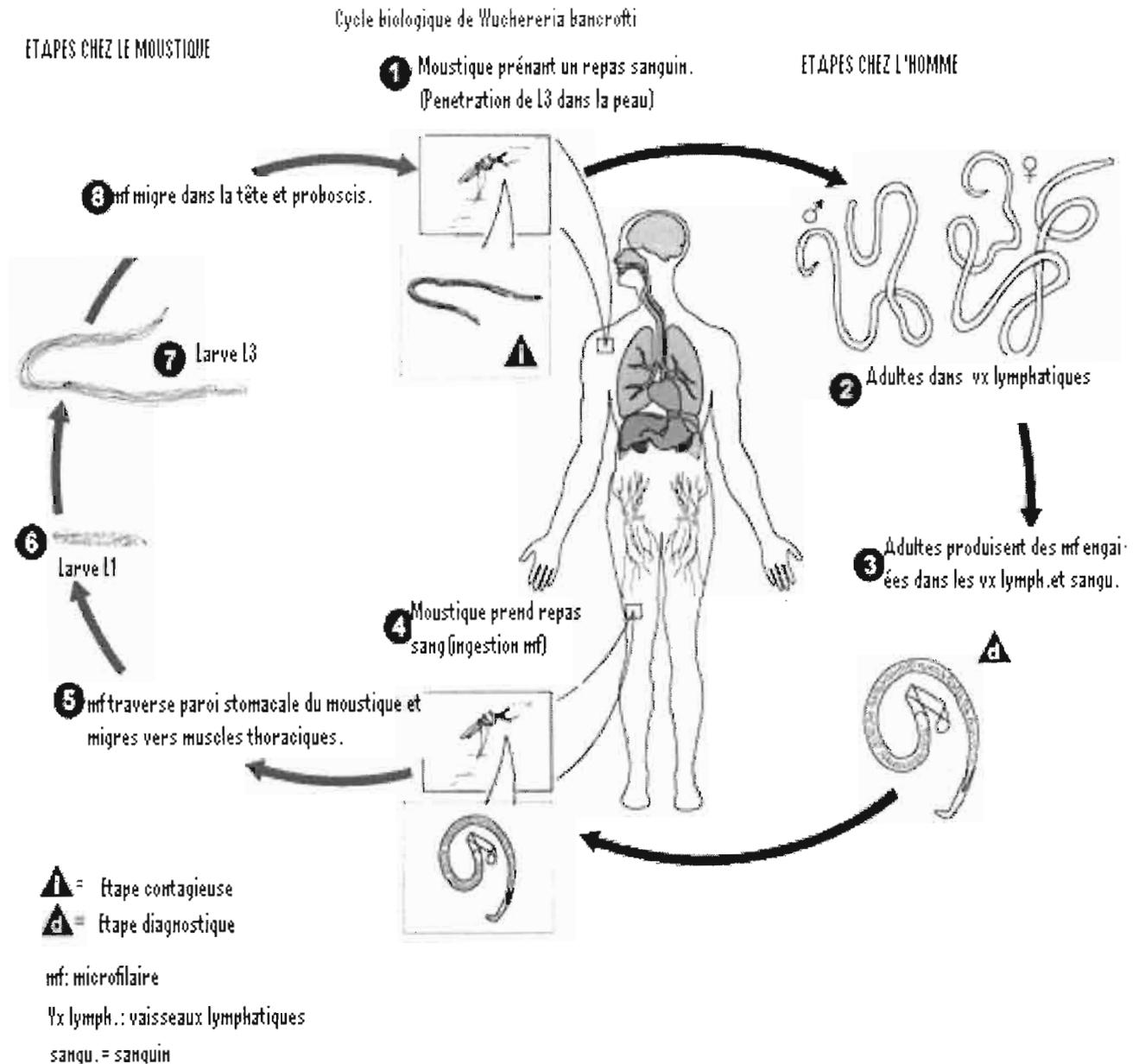
##### **II.4.1. Chez l'hôte définitif (Homme):**

L'Homme est infesté par des piqûres de moustiques femelles abritant les larves infectantes au stade L3. L'anophèle femelle infectée en piquant un sujet sain et sous la pression des microfilaries, la trompe éclate, sa partie moyenne s'infléchit, les microfilaries métacycliques sans leur gaine sont déposées sur la peau dans la plaie. Les larves pénètrent activement dans la peau, gagnent les espaces lymphatiques et se logent en amont des ganglions. Arrivée à la maturité sexuelle, la femelle vivipare expulse des embryons ou microfilaries. Ces microfilaries sont entraînées par la lymphe et se concentrent dans le sang circulant où elles peuvent vivre environ 3 mois. Elles deviennent adultes en 3 mois après 2 mues. Le jour, les microfilaries se cachent dans le système artériel profond, essentiellement au niveau des artéριοles pulmonaires, du cœur gauche et de l'aorte.

##### **II.4.2. Chez l'hôte intermédiaire (anophèle femelle) :**

Le moustique femelle hématophage absorbe lors de son repas sanguin les microfilaries (mf) de *Wuchereria bancrofti* entre 22h et 02h chez un sujet infesté. Certaines microfilaries ingérées perdent leur gaine dans l'estomac du moustique, traversent la paroi stomacale et passent dans la cavité générale. Elles évoluent vers le stade L1 en 5 à 6 jours. Du stade L1, elles passent au stade intermédiaire L2. Quelques jours après, une autre mue s'effectue donnant ainsi le stade

L3 (infectant). Les larves sont alors très mobiles, longues et fines. L'ensemble du cycle dure en moyenne un peu moins de quinze jours à 25°C-30°C.



**Figure 2:** Cycle biologique de *Wuchereria bancrofti*; modifié de Thérèse Duriez, source : Lucien Dujardin, Daniel Alfchain, 2002

## II.5. Les vecteurs

Les vecteurs responsables de la transmission des microfilaires de *W. bancrofti* sont des moustiques (hôtes intermédiaires) en l'occurrence des genres *Anopheles* et *Culex*.

*Anopheles gambiae* et *An. funestus*, sont les principaux vecteurs de *W. bancrofti* en Afrique de l'Ouest. Ils peuvent aussi transmettre d'autres agents pathogènes comme *Plasmodium sp.*

Seule l'intervention d'un vecteur assure sa transmission d'un individu à un autre. L'homme est infesté par des piqûres de moustiques femelles abritant les larves infectantes.

## II.6. Cycle du développement des *Anopheles*

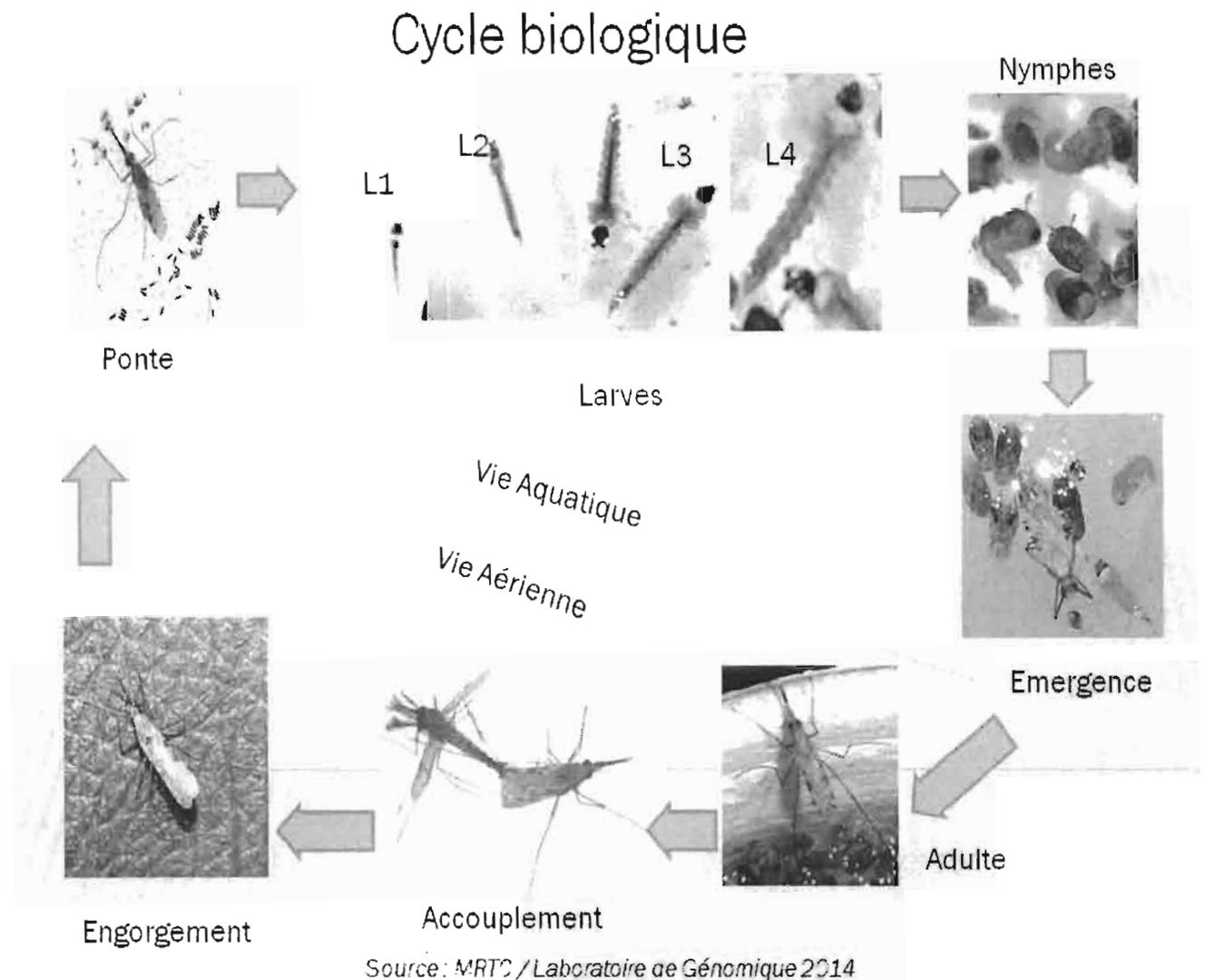
Le cycle biologique des anophèles comprend deux phases :

➤ Une phase aquatique pour les stades préimaginaux ou immatures: œuf, larves (avec 4 stades larvaires entrecoupés chacun d'une mue) et nymphe.

➤ Une phase aérienne pour le stade adulte ou imaginal, avec des mâles et des femelles.

C'est la période de reproduction et de dispersion.

Chaque espèce de moustique semble posséder, dans des conditions climatiques déterminées, un cycle d'activité qui lui est propre. Chez le genre *Anopheles*, la durée du stade larvaire est d'environ sept jours (si les conditions extérieures sont favorables : qualité de l'eau, température et nourriture essentiellement). Les adultes vivent selon les conditions et les espèces, de 15 à 30 jours (19).



**Figure 3:** Cycle biologique des anophèles

## II.7. Répartition géographique

Les filarioses lymphatiques sont endémiques et représentent un problème de santé publique dans 80 pays, répartis essentiellement dans trois régions du monde. La maladie est répandue surtout en Asie (sous-continent indien et Asie du Sud), en Afrique, dans les Îles du Pacifique et

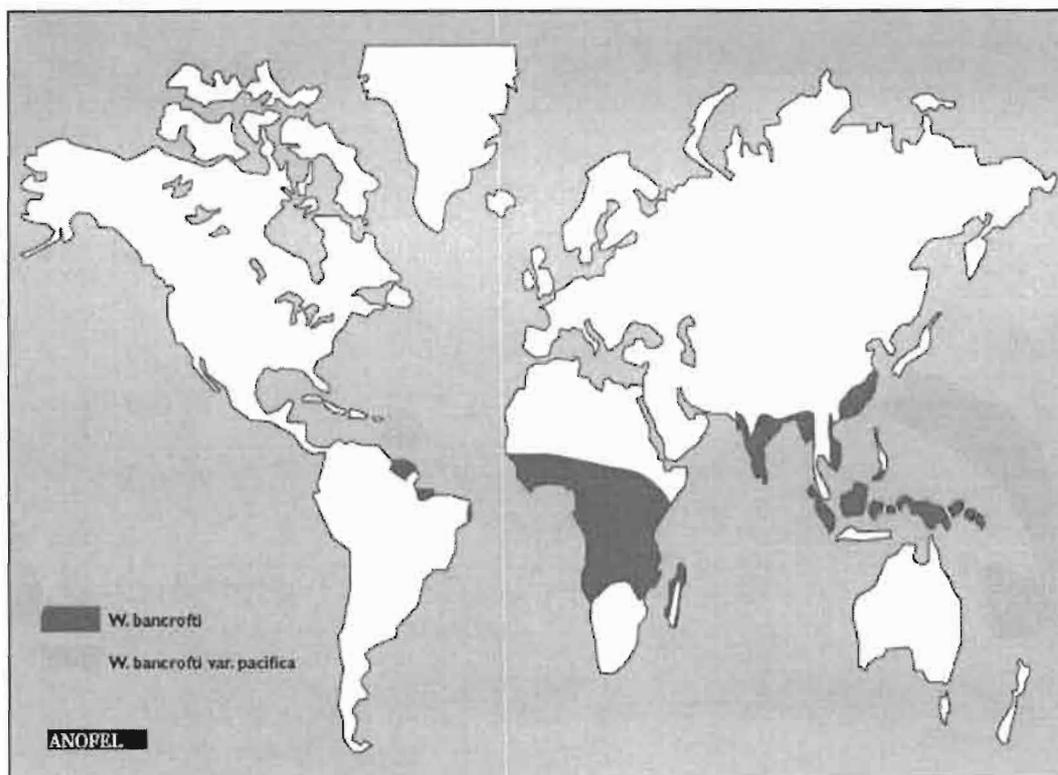
l'infection filarienne par région, 52, 3% des cas mondiaux ont été recensés en Asie du Sud-Est, 42,2% en Afrique, 4,8% dans le Pacifique oriental, 0,4% en Amérique, 0,3% en Méditerranée orientale. L'Afrique noire est infectée par *W. bancrofti*, du Sénégal à l'Ouest, jusqu'à la Somalie et au Mozambique à l'Est, en s'étendant également aux îles proches de l'Océan Indien (6,20).

En Afrique de l'Est, *W. bancrofti* est toujours bien implanté dans les régions côtières du Kenya, du Mozambique, le long du fleuve Zambèze et autour des Grands lacs. En Egypte les foyers se localisent dans la région du Delta du Nil.

En Afrique centrale, *W. bancrofti* sévit encore dans le Nord et l'Ouest de la République Démocratique du Congo et dans le Nord du Cameroun.

En Afrique de l'Ouest, la filariose lymphatique se rencontre surtout dans les régions côtières, en zone de forêt mais aussi de savane notamment au Ghana, au Togo, au Bénin, au Burkina Faso et au Nigéria (20,21).

Au Burkina Faso, une cartographie de la filariose lymphatique a été réalisée en 2000 et a révélé que toutes les régions du pays sont endémiques avec une prédominance particulière dans les régions sanitaires du Sud-Ouest, du Centre-Est, du Centre-Sud et de l'Est (14,22). Jusqu'en fin 2010 tous les districts sanitaires du pays étaient considérés endémiques bien que certains aient été éligibles à l'arrêt du traitement à l'albendazole et l'ivermectine. C'est le cas des districts sanitaires de Dandé, Dô, Houndé, Dafra, Karangasso-Vigué et Léna qui sont en arrêt de TDM et qui sont désormais sous surveillance active (14).



**Figure 4:** Répartition géographique du genre *Wuchereria* : en rouge *W. bancrofti*, en orange la variété *pacifica*. (CD Rom ANOFEL)

## **II.7. Xénosurveillance de la filariose lymphatique**

C'est dans la Région des Amériques que la technique entomologique de la xénosurveillance a été mise au point et testée au cours de la dernière décennie. Elle fait maintenant partie de la boîte à outils utilisée pour surveiller *Culex quinquefasciatus* (9). Par exemple, une enquête entomologique qui a été réalisée à Limbé en Haïti montrait sur 100 *Culex quinquefasciatus* femelles disséquées : 20 présentaient des larves L1 en saucisse ou des L2 dans les muscles thoraciques et 4 possédaient des L3 au niveau de la trompe (23). A cela s'ajoute la xénosurveillance moléculaire (surveillance de la FL chez les moustiques par des méthodes moléculaires), qui est l'une des méthodes utilisée pour la Surveillance post-TDM.

## **II.8. Programme mondial d'élimination de la filariose lymphatique et son application**

Les nombreux essais cliniques menés depuis 10 ans ont démontré la remarquable efficacité sur *W. bancrofti* et *B. malayi* de trois médicaments (diéthylcarbamazine, ivermectine et albendazole), utilisés seuls ou combinés, mais à doses uniques; ces résultats ont conduit en 1992 le groupe spécial international pour l'éradication des maladies à inclure la filariose lymphatique dans la liste des maladies tropicales négligées dont l'éradication est considérée comme possible (16,24).

Consciente de l'importance économique, sociale et sanitaire de la filariose lymphatique, la 50<sup>ème</sup> Assemblée mondiale de la santé a adopté, en mai 1997, la Résolution WHA50.29 appelant à l'élimination de la FL, en tant que problème de santé publique mondial, d'ici à 2020, en protégeant l'ensemble de la population exposée au risque, et cela, à travers une stratégie comportant deux volets (13,20). Le premier volet vise la prévention primaire des nouveaux cas par la distribution une fois par an d'une dose unique d'albendazole et d'ivermectine ou de sel enrichi de citrate de diéthylcarbamazine (DEC) et le deuxième volet vise la prévention secondaire et tertiaire de la morbidité associée à la maladie par l'accès au traitement chirurgical de l'hydrocèle et à une auto prise en charge du lymphoedème. Ainsi, la région Afrique de l'OMS a lancé le Programme d'élimination de la filariose lymphatique (PEFL) en 2000 (18,25). A l'instar des pays comme le Ghana, le Nigéria, la Tanzanie, le Togo, le Burkina Faso a lancé son programme national d'élimination de la filariose lymphatique en 2000 (3). En 2014, parmi les 73 pays où la FL était considérée comme endémique, 18 avaient progressé jusqu'à la phase de surveillance et 55 nécessitaient encore un TDM. La couverture dans les pays endémiques a été de 70,5% (559,3 millions de personnes traitées sur 793,8 millions de personnes à traiter) (6).

Dans la Région Africaine, les 35 pays d'endémie ont enregistré des progrès conséquents, des campagnes de TDM ont été menées dans 25 pays, la couverture notifiée a été de 84,3%. Elle a été de 73,4% à Madagascar. Il n'y a pas eu de TDM aux Comores. Dans la Région de l'Asie du

Polynésie française (mais pas la Nouvelle-Calédonie), ont mis en œuvre le TDM avec une couverture notifiée de 71,5%. Dans la Région des Amériques, 4 pays ont besoin d'un TDM : Brésil, République Dominicaine, Guyana, Haïti.

D'importants succès sont enregistrés avec le TDM dans le monde. Dans certains pays d'endémie, les provinces, qui ont pratiqué 5 à 6 tours de TDM et obtenue une prévalence de la microfilarémie inférieure à 1%, doivent entrer dans la phase suivante du programme, à savoir la mise en œuvre du processus de suivi et d'évaluation visant à déterminer si l'on peut interrompre le TDM et commencer la surveillance post-TDM. C'est le cas, par exemple, du Togo en Afrique subsaharienne, du Viet Nam et du Cambodge dans le Mékong-Plus.

Au Burkina Faso, la mise en application du programme a été effective en Septembre 2001, suite aux résultats de l'enquête de prévalence de l'antigène circulant de juin 2000 qui ont révélé que toutes les régions du Burkina Faso étaient endémiques à la filariose lymphatique, avec des prévalences variant entre 2 (région des Cascades) et 74% (région du Sud-Ouest). Les médicaments utilisés sont l'ivermectine et l'albendazole administrés respectivement en raison de 150 ug/kg et 400 mg par personne. Les malades graves, les enfants ayant un poids inférieur à 15 kg ou une taille inférieure à 90 cm (enfants ayant moins de 5ans), et les femmes enceintes ne sont pas éligibles au traitement ivermectine/albendazole. Mais après plus de 10 ans de mise en œuvre, la FL reste un problème de santé publique au Burkina Faso dans certaines régions sanitaires. D'autres actions visant à lutter contre le vecteur et à réduire l'exposition aux piqûres des moustiques doivent être associées, notamment l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA), la pulvérisation intradomiciliaire (PID), la destruction des gîtes larvaires et autres mesures d'assainissement.

# OBJECTIFS

### **III. OBJECTIFS**

#### **III.1. Objectif général**

Evaluer la transmission de la filariose lymphatique à *Wuchereria bancrofti* au Centre-Est du Burkina.

#### **III.2. Objectifs spécifiques**

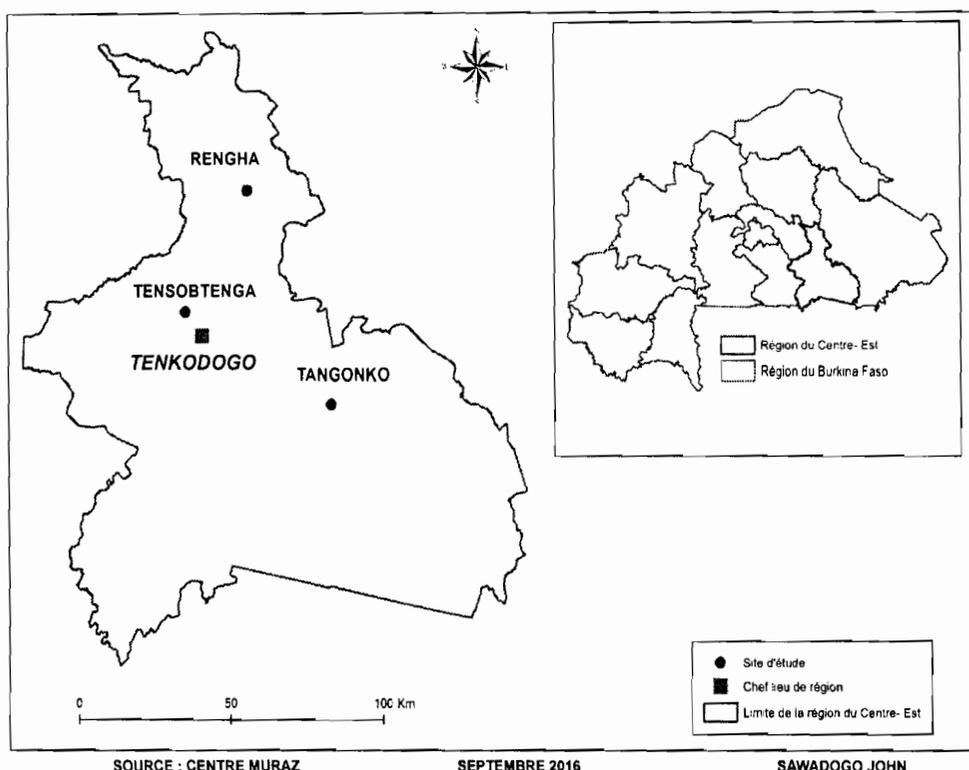
- ✓ Identifier les différentes espèces vectrices intervenant dans la transmission de *Wuchereria bancrofti* au Centre-Est du Burkina ;
- ✓ Calculer l'indice microfilarien des espèces vectrices ;
- ✓ Calculer le taux d'agressivité des vecteurs ;
- ✓ Déterminer les préférences trophiques des vecteurs ;
- ✓ Déterminer la fréquence allélique de la mutation *kdr* des vecteurs.

# METHODOLOGIE

## IV. METHODOLOGIE

### IV.1. Site d'étude

La région du Centre-Est est composée de trois provinces (Boulgou, Koulpélogo, Kourittenga), 30 communes dont six communes urbaines (Bitou, Garango, Tenkodogo, Ouargaye, Koupéla, Pouytenga), et 24 communes rurales avec 676 villages administratifs. La région couvre une superficie de 14710 km<sup>2</sup> soit 6,7% du territoire national et est habitée par 1 054 955 habitants soit 8,2% de la population nationale en 2006 (26). Le chef-lieu de la région est Tenkodogo situé à 185 Km de Ouagadougou, la capitale du Burkina Faso, à 105 Km de la frontière du Togo et à 78 Km de la frontière du Ghana. Elle regorge d'un important potentiel de bas-fonds aménageables pour une amélioration de la production agricole pluviale et de contre saison. Elle compte environ 197710 ha de cours d'eau et une zone inondable équivalente à près de 18,5% de la superficie de la région. Elle compte un Centre Hospitalier Régional, trois Centres médicaux avec antenne chirurgicale, 102 Centres de santé et de promotion sociale (CSPS), deux dispensaires, dix formations sanitaires privées, quatre formations sanitaires confessionnelles. Tous ces villages (Rengha, Tangonko, Tensobtenga) de la région ont reçu au moins 6 tours de traitement de masse d'ivermectine-albendazole de par le passé assurés par le PNMTN. Cependant ils sont toujours caractérisés par des nombres élevés de cas positifs au-dessus du seuil mais aucune donnée entomologique n'est disponible pour expliquer la persistance de la FL dans les dites localités.



**Figure 5:** Carte du site d'étude

## IV.2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude entomologique transversale à deux passages, en août 2014 et en septembre 2015 dans chacune des localités d'étude. Les analyses de laboratoire ont été faites de décembre 2015 à janvier 2016.

## IV.3. Collecte des moustiques

La capture des vecteurs a été faite grâce à la capture sur Homme et la pulvérisation intradomiciliaire pour la collecte de la faune résiduelle matinale.

**Capture sur Homme (CSH) :** les moustiques ont été collectés dans cinq maisons par village, pendant deux nuits consécutives de collecte. La capture a été réalisée de la façon suivante : un captureur a été affecté à l'intérieur d'une maison choisie aléatoirement et un autre à l'extérieur de la même maison de 20 h à 06 h du matin. Vingt captureurs (10 intérieures et 10 extérieures) au total ont été utilisées par localité. Ainsi, il y a eu 10 captureurs par séance de capture et par village. A la lumière de la torche, le captureur prenait tout moustique en quête de repas sanguin venant se poser sur ses jambes. Après identification des différentes espèces vectrices, les moustiques ont été conservés dans des tubes sur silicagel pour les analyses au laboratoire.



**Figure 6:** Méthode de collecte des moustiques par capture sur homme.

**Récolte de la faune résiduelle par pulvérisation à l'aide d'insecticide aérosol (Kaltox®) à l'intérieur des maisons:** elle a été réalisée dans les trois villages (Rengha, Tangonko et Tensobtenga). Cette récolte a été faite entre 06 h et 08 h du matin dans cinq maisons par jour à raison de deux jours de collecte. Nous avons étalé les draps blancs sur le pavement dans toutes les pièces de la maison. Nous avons commencé d'abord à pulvériser les ouvertures de la maison, devant les portes et fenêtres, ensuite à l'intérieur de la maison.

Après 15 minutes, nous avons ouvert les portes et les fenêtres, pour récupérer les moustiques qui sont tombés sur les draps. Les moustiques collectés ont été identifiés morphologiquement et stockés dans des tubes eppendorf avec du silicagel.



**Figure 7:** Drap blanc étalé sur le pavement pour récupérer les moustiques.

#### IV.4. Analyse des échantillons

##### IV.4.1. Analyse des échantillons sur le terrain

**Identification des espèces de moustiques :** dans un premier temps, les espèces du genre *Anopheles sp*, *Culex sp*, *Aedes sp* et *Mansonia sp*, ont été identifiés sur la base des caractères morphologiques en utilisant une clé d'identification de Gillies & De Meillon (1968).

**Détermination du taux de parturité :** après l'identification morphologique, les ovaires des spécimens *d'Anopheles* ont été extraits et examinés pour établir la parturité selon la technique de Detinova (27). Le taux de parturité a été donc déterminé sur les moustiques *d'An. gambiae s.l.* à jeûn. Le protocole consistait à agiter le tube contenant les moustiques pour les assommer sans les écraser puis les mettre dans une boîte de Pétri contenant du papier absorbant mouillé. Une goutte d'eau physiologique était déposée sur la lame porte-objet. Le moustique était déposé dans la goutte sur le dos. A l'aide de la loupe binoculaire et d'une pince à dissection, les deux derniers segments abdominaux sont tirés d'un mouvement continu et doux pour faire sortir les ovaires.

Leur examen a permis de distinguer les femelles pares (qui avaient déjà pondu au moins une fois) des femelles nullipares (qui n'avaient pas encore pondu). Au moins 150 spécimens de femelles *d'An. gambiae s.l.* ont été utilisés

## **IV.4.2. Analyse des échantillons au laboratoire**

### **IV.4.2.1. L'identification moléculaire des espèces du complexe *Anopheles gambiae s.l.***

Le protocole de Santolamazza et al, 2008 a été utilisé pour l'identification des espèces du complexe *Anopheles gambiae s.l.* L'ADN génomique a été extrait dans du CTAB 2% en utilisant la tête et le thorax des spécimens d'*An. gambiae s.l.* (Annexe1).

Trente spécimens par localité ont été choisis. Le couple d'amorces S200X 6.1F (TCGCCTTAGACCTTGCGTTA) et S200X 6.1R (CGCTTCAAGAATTCGAGATAC) a été utilisé. Ainsi, 3 µL d'ADN pur, extrait à partir de la tête et du thorax des spécimens d'*An. gambiae s.l.* ont été ajoutés dans 12 µL de mélange réactionnel (eau ultra pure 6,725 µl, 3µl de tampon Buffer 5X, 0,6µl de dNTPs 5 mM et de MgCl<sub>2</sub> 25 mM de 0,75µl de chacune des deux amorces et 0,075 µl de Taq Polymérase 5UI).

L'amplification a été faite selon le programme: 10 minutes à 94°C pour dénaturer l'ADN, suivies de 35 cycles comprenant chacun 30 secondes de dénaturation à 94°C, 30 secondes pour l'hybridation des amorces à 54°C et 60 secondes d'élongation à 72°C. A la fin de cette amplification, les produits de la PCR ont été soumis à une migration électrophorétique sur gel d'agarose à 1,5 % avec 5 µL de BET. La taille attendue des fragments d'ADN visualisés sous UV était respectivement de 479 bp (présence du gène Sine 200x 6.1) pour *An. coluzzi*, 249 bp (absence du gène Sine 200x 6.1) pour *An. gambiae*, *An. melas*, *An. quadriannulatus* et 223 bp (absence du gène Sine 200x 6.1) pour *An. arabiensis* (28), (Annexe 2).

### **IV.4.2.2. La caractérisation de gène de résistance *kdr***

La recherche de gène de résistance *kdr* a été réalisée suivant le protocole de Martinez-Torres et al. (1998), (Annexe 3) pour la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest.

Les amorces utilisées ont été :

D1 ATA-GAT-TCC-CCG-ACC-ATG

D2 AGA-CAA-GGA-TGA-TGA-ACC

D3 AAT-TTG-CAT-TAC-TTA-CGA-CA

D4 CTG-TAG-TGA-TAG-GAA-ATT-TA

Trois µL d'ADN pur, extraits à partir de la tête et le thorax des spécimens d'*An. gambiae s.l.* ont été ajoutés dans 12 µL de milieu réactionnel mixte pour l'amplification (Master mix) pour un volume final de 15 µl contenant d'eau ultra pure 6,35 µl, 2,5 µl de tampon Buffer 5X, 0,5 µl de dNTPs 5 mM et de MgCl<sub>2</sub> 25 mM de 0,3 µl des deux amorces Primer D1 10µM et D2 et de 1 µl chacune des deux dernières amorces Primer D3 10 µM et D4 et 0,05 µl de Taq Polymérase 5 UI ; le tout dans un tube de 0,25 mL pour chaque échantillon. En plus des extraits d'ADN de terrain, des témoins positifs (résistants : RR et sensibles : SS) ont été ajoutés

L'amplification a été faite selon le programme à 35 cycles (Annexe 3). A la fin de cette amplification, les produits de la PCR ont été soumis à une migration électrophorétique sur gel d'agarose à 1,5 % avec 5 µL de BET. La taille attendue des fragments d'ADN visualisés sous UV était respectivement de 293 bp pour la bande commune (D1/D2), de 195 bp pour mutation résistante (D1/D3) et de 137 bp pour la mutation sensible (D2/D4).

#### **IV.4.2.3. Détermination de l'indice microfilarien**

Il a été déterminé à partir de l'identification des pools de spécimens infectés par PCR classique. Ainsi cent moustiques d'anophèles femelles par localité ont été utilisés pour la PCR en raison de 10 pools (10 moustiques par pool) par localité, soit au total trente pools.

Cette PCR utilise deux amorces NV1 et NV2 (29,30) :

- NV1 CGTGATGGCATCAAAGTAGCG

- NV2 CCCTCACTTACCATAAGACAA C, (Annexe 4).

Le logiciel *Pool Screen*® 2.0 a été utilisé pour le calcul du taux d'infection à *W. bancrofti*. Ce logiciel utilise un modèle statistique pour calculer la probabilité d'infection des vecteurs à partir du nombre de pools positifs avec IC à 95% (31).

#### **IV.4.2.4. ELISA repas de sang**

L'efficacité avec laquelle les moustiques transmettent *W. bancrofti* est associée à leur contact avec l'hôte humain. Le taux de gorgement des femelles sur l'Homme ou anthropophilie est la condition *sine qua non* de la transmission du parasite.

L'origine des repas de sang pris par les femelles a été déterminée par les ELISA repas de sang sur les femelles gorgées selon le protocole de Beier et *al* (32) pour rechercher la présence d'immunoglobuline G. En effet, au minimum 100 spécimens de femelles gorgées d'*An. gambiae s.l.* par localité collectées en PID ont été testées. Le choix des anticorps testés a été fait en tenant compte des animaux qui étaient présents dans la zone d'étude et sur lesquels les anophèles femelles auraient pu se gorger. Cinq anticorps ont été ainsi testés : anticorps anti-humain, anti-porc, anti-mouton, anti-âne et anti-bovin. Ces anticorps, tous marqués à la peroxydase, ont été stockés à + 4° C. Ainsi, les moustiques ayant pris le sang chez l'Homme, chez les animaux ou les repas mixtes ont été déterminés (Annexe 5).

#### **IV.5. Analyse des données**

Toutes les données ont été reportées sur des fiches de collecte conçues, pour les études entomologiques.

La saisie, le nettoyage et l'analyse des données ont été faits avec les logiciels SPSS 12.0. Les proportions ont été comparées par le test de Chi carré de Pearson avec un seuil de signification  $p \leq 0,05$ .

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

Le taux d'agressivité (**Ta**) ou la densité anophélienne agressive pour l'Homme (**ma**) a été calculé en tenant compte du nombre de piqûres par Homme et par nuit (p/h/n) pour le complexe *gambiae*. Cette expression combine : densité anophélienne(m) et le nombre de sujets humains piqués en 1 nuit par 1 anophèle femelle (a). D'où **Ta = ma**

Le taux d'inoculation entomologique (TIE): ce taux désigne, pendant une période précise, le produit du taux de piqûre (ma) par l'indice microfilarien (Im).

Le taux d'infection par *W. bancrofti* ou indice microfilarien est la proportion de pools positifs à la PCR dont la détermination se fait par le logiciel « *Pool Screen*® 2.0» avec un IC à 95%.

La fréquence allélique des gènes de résistance aux pyréthrinoïdes de chacune des mutations *kdr* a été calculée suivant la formule :

$F(R) = (2RR + RS)/2n$  avec n = effectif total de la population.

Les calculs des autres paramètres entomologiques ont été faits comme suit :

- $m.a = \frac{\text{Nombre total d'anophèles capturés}}{\text{Nombre de captureurs} \times \text{Nombre de nuits de captures}}$
- $\text{Taux de parturité} = \frac{\text{Nombre de femelles pares}}{\text{Nombre de femelles examinées}} \times 100$

Les tableaux et représentations graphiques ont été faits à l'aide du logiciel Microsoft Excel.

#### IV.6. Considérations éthiques

Le protocole de l'étude a eu l'approbation du comité d'éthique institutionnel du Centre Muraz. Le protocole d'étude a été d'abord clairement expliqué aux autorités sanitaires de la région. Une sensibilisation auprès des communautés villageoises a également été effectuée.

Les captureurs étaient des adultes de sexe masculin, de plus de 18 ans, ayant reçu le traitement de la FL avec l'ivermectine et l'albendazole. Ils ont été recrutés après l'obtention de leur consentement éclairé écrit. Ils ont été suivis durant 15 jours au CSPS de la localité et en cas de fièvre, un TDR a été réalisé pour un traitement antipaludique si positif.

# **RESULTATS**

## V. RESULTATS

### V.1. Distribution globale de la population vectorielle par localité

Un total de 4001 spécimens d'*An. gambiae s.l* a été collecté en août 2014 (3218 en CSH et 783 en CFR) et 7742 spécimens d'*An. gambiae s.l*. en septembre 2015 (5896 en CSH et 1846 en CFR). En plus des espèces anophéliennes, nous avons capturé à des densités faibles des moustiques du genre *Culex s.l.* (323 spécimens en août 2014, 436 spécimens en septembre 2015) et du genre *Aedes s.l* (19 spécimens en août 2014 et 31 spécimens en septembre 2015).

La capture sur Homme était plus productive en termes de spécimens anoph liens capturés, quelle que soit la localité ou la période de capture (Tableau I).

**Tableau I:** Distribution globale de la population vectorielle par localité et par mois

| Mois             | Espèces                | Rengha |      | Tangonko |     | Tensobtenga |     | Total |      |
|------------------|------------------------|--------|------|----------|-----|-------------|-----|-------|------|
|                  |                        | CSH    | CFR  | CSH      | CFR | CSH         | CFR | CSH   | CFR  |
| Août (2014)      | <i>An. gambiae s.l</i> | 865    | 286  | 1021     | 322 | 1332        | 175 | 3218  | 783  |
|                  | <i>Culex s.l</i>       | 66     | 49   | 166      | 156 | 1           | 40  | 233   | 90   |
|                  | <i>Aedes s.l</i>       | 10     | 1    | 1        | 0   | 7           | 0   | 18    | 1    |
|                  | Total                  | 941    | 336  | 1188     | 478 | 1340        | 215 | 3469  | 874  |
| Septembre (2015) | <i>An. gambiae s.l</i> | 3499   | 1382 | 827      | 111 | 1570        | 353 | 5896  | 1846 |
|                  | <i>Culex s.l</i>       | 24     | 76   | 157      | 126 | 10          | 43  | 191   | 245  |
|                  | <i>Aedes s.l</i>       | 11     | 0    | 13       | 0   | 7           | 0   | 31    | 0    |
|                  | Total                  | 3534   | 1458 | 997      | 237 | 1587        | 396 | 6118  | 2091 |

*An. gambiae s.l.*= *Anopheles gambiae sensus lato*, *Culex s.l.*= *Culex sensus lato*, *Aedes s.l.*= *sensus lato*, CSH (Capture sur Homme), CFR (Collecte de la faune résiduelle)

### V.2. Distribution de la population anophélienne par localité et par mois

La quasi-totalité des espèces anophéliennes capturées était du complexe *An. gambiae s.l.* en dehors d'un seul spécimen d'*An. funestus* capturé   Tensobtenga (Tableau II). La densité de la faune anophélienne était plus importante en septembre 2015 (5896 femelles d'*An. gambiae s.l.* collectées) qu'en août 2014 (3218 femelles d'*An. gambiae s.l.* collectées), indépendamment de la localité. La population vectorielle était plus endophile (5170 femelles d'*An. gambiae s.l.* collectées). *Anopheles gambiae s.l.* prédominait nettement dans toutes les localités d'étude durant les périodes de collecte. Ce qui fait que tous les résultats présentés ici, ne concerneront qu'*An. gambiae s.l.* (Tableau II).

**Tableau II:** Distribution globale de la population anophélienne par localité

| Mois             | Espèces                 | Rengha | Tangonko | Tensobtenga | Total |
|------------------|-------------------------|--------|----------|-------------|-------|
| Août (2014)      | <i>An. gambiae s.l.</i> | 865    | 1021     | 1332        | 3218  |
|                  | <i>An. funestus</i>     | 0      | 0        | 0           | 0     |
|                  | <i>An. nili</i>         | 0      | 0        | 0           | 0     |
|                  | Total                   | 865    | 1021     | 1332        | 3218  |
| Septembre (2015) | <i>An. gambiae s.l.</i> | 3499   | 827      | 1570        | 5896  |
|                  | <i>An. funestus</i>     | 0      | 1        | 0           | 1     |
|                  | <i>An. nili</i>         | 0      | 0        | 0           | 0     |
|                  | Total                   | 3499   | 828      | 1570        | 5897  |

*An. (Anopheles),*

### V.3. Distribution globale des espèces *Anopheles gambiae s.l.* par localité

Le tableau III fait le récapitulatif de la distribution globale des espèces d'*An. gambiae s.l.* par localité et par mois.

En août 2014, les PCR diagnostiques réalisées sur les spécimens d'*An. gambiae s.l.* récoltés en CSH ont donné 80% d'*An. coluzzii* à Rengha. *Anopheles gambiae* a été trouvé majoritaire dans les autres localités (80% à Tangonko et 96,66% à Tensobtenga).

En septembre 2015, *An. coluzzii* restait l'espèce majoritaire à Rengha (83,33%) et prenait le dessus également à Tensobtenga avec 66,66% des effectifs identifiés. *Anopheles arabiensis* a été capturé uniquement en Août 2014 mais les densités étaient faibles (5,55%).

**Tableau III:** Distribution globale des espèces *d'Anopheles gambiae s.l.* par localité et par mois.

| Mois             | Espèces                         | Rengha<br>% (n) | Tangonko<br>% (n) | Tensobtenga<br>% (n) | Total<br>% (n) |
|------------------|---------------------------------|-----------------|-------------------|----------------------|----------------|
| Août (2014)      | <i>An. arabiensis</i>           | 10 (3)          | 6,66 (2)          | 0                    | 5,55 (5)       |
|                  | <i>An. coluzzii</i>             | 80 (24)         | 13,33 (4)         | 3,33 (1)             | 32,22 (29)     |
|                  | <i>An. gambiae</i>              | 10 (3)          | 80 (24)           | 96,66 (29)           | 62,22 (56)     |
|                  | <i>An. coluzzii/An. gambiae</i> | 0               | 0                 | 0                    | 0              |
|                  | Total                           | 100 (30)        | 100 (30)          | 100 (30)             | 100 (90)       |
| Septembre (2015) | <i>An. arabiensis</i>           | 0               | 0                 | 0                    | 0              |
|                  | <i>An. coluzzii</i>             | 83,33 (25)      | 43,33 (13)        | 66,66 (20)           | 64,44 (58)     |
|                  | <i>An. gambiae</i>              | 16,66 (5)       | 56,66 (17)        | 33,33 (10)           | 35,55 (32)     |
|                  | <i>An. coluzzii/An. gambiae</i> | 0               | 0                 | 0                    | 0              |
|                  | Total                           | 100 (30)        | 100 (30)          | 100 (30)             | 100 (90)       |

% : pourcentage ; (n) : effectifs testés ; *An.* (*Anopheles*).

#### V.4. Comportement de la population vectorielle par localité

##### V.4.1. Répartition de la population anophélienne en fonction de leur état de réplétion

L'état physiologique des espèces anophéliennes a été étudié sur les moustiques collectés en faune résiduelle (Tableau IV). Sur un total de 1057 femelles *d'An. gambiae s.l.* collecté en août 2014, nous avons dénombré 495 femelles gorgées, 235 femelles gravides et 45 femelles à jeûn. En septembre 2015, nous avons collecté 1158 femelles gorgées, 306 femelles gravides et 282 femelles à jeûn).

**Tableau IV:** Distribution globale de la population anophélienne en fonction de leur état de réplétion

| <i>Anopheles gambiae s.l.</i> (Août 2014) |            |            |                |             |       |       |
|---|------------|------------|----------------|-------------|-------|-------|
| Localité                                  | Fem. gorg. | Fem. grav. | Fem. 1/2 grav. | Fem. à jeûn | Males | Total |
| Rengha                                    | 157        | 103        | 5              | 21          | 163   | 449   |
| Tangonko                                  | 206        | 104        | 0              | 12          | 76    | 398   |
| Tensobtenga                               | 132        | 28         | 3              | 12          | 35    | 210   |
| Total                                     | 495        | 235        | 8              | 45          | 274   | 1057  |

| <i>Anopheles gambiae s.l.</i> (Septembre 2015) |            |            |                |             |       |       |
|--|------------|------------|----------------|-------------|-------|-------|
| Localité                                       | Fem. gorg. | Fem. grav. | Fem. 1/2 grav. | Fem. à jeûn | Males | Total |
| Rengha   | 845        | 233        | 71             | 233         | 850   | 2237  |
| Tangonko                                       | 64         | 29         | 5              | 13          | 10    | 121   |
| Tensobtenga                                    | 249        | 44         | 24             | 36          | 67    | 420   |
| Total  | 1158       | 306        | 100            | 282         | 927   | 2778  |

Fem. gorg. (femelles gorgées) ; Fem. grav. (femelles gravides) ; Fem. ½ grav. (femelles sémi-gravides) ; Fem. à jeûn (femelles à jeûn).

#### V.4.2. Répartition de la population anophélienne en fonction de leur comportement de piqûre (endophagie/exophagie)

Le comportement de piqûre estimé sur les femelles collectées en CSH est présenté dans le tableau V.

Au total 3218 femelles d'*An. gambiae s.l.* ont été collectées en août 2014 en CSH avec 1646 femelles à l'intérieur des maisons contre 1572 à l'extérieur des maisons. Cette densité a augmenté considérablement d'une localité à une autre en septembre 2015 (5896 femelles d'*An. gambiae s.l.*) avec une densité élevée (3524 femelles) à l'intérieur des maisons contre 2372 à l'extérieur.

**Tableau V:** Distribution de la population anophélienne en fonction de leur comportement de piqûre.

| Mois             | Espèces                 | Renghin |      | Tangonko |     | Tensobtenga |     | Total |      |
|------------------|-------------------------|---------|------|----------|-----|-------------|-----|-------|------|
|                  |                         | Int     | Ext  | Int      | Ext | Int         | Ext | Int   | Ext  |
| Août (2014)      | <i>An. gambiae s.l.</i> | 496     | 369  | 517      | 504 | 633         | 699 | 1646  | 1572 |
|                  | <i>An. funestus</i>     | 0       | 0    | 0        | 0   | 0           | 0   | 0     | 0    |
|                  | <i>An. nili</i>         | 0       | 0    | 0        | 0   | 0           | 0   | 0     | 0    |
|                  | Total                   | 496     | 369  | 517      | 504 | 633         | 699 | 1646  | 1572 |
| Septembre (2015) | <i>An. gambiae s.l.</i> | 2058    | 1441 | 445      | 382 | 1021        | 549 | 3524  | 2372 |
|                  | <i>An. funestus</i>     | 0       | 0    | 0        | 1   | 0           | 0   | 0     | 1    |
|                  | <i>An. nili</i>         | 0       | 0    | 0        | 0   | 0           | 0   | 0     | 0    |
|                  | Total                   | 2058    | 1441 | 445      | 383 | 1021        | 549 | 3524  | 2373 |

*An.* (*Anopheles*), Int. (Intérieur), Ext. (Extérieur)

#### V.4.3. Préférence trophique

Le taux d'anthropophilie était élevé dans toutes les localités, soit par un repas uniquement sur l'Homme ou par des repas mixtes Homme-Animaux. La proportion des repas mixtes était surtout plus importante au mois d'août avec un taux de 54,24% (27,15% à Rengha, 91,11% à Tangonko et 100% à Tensobtenga) (Tableau VI).

En septembre 2015, le taux d'anthropophilie uniquement était en moyenne supérieur 50% dans les localités d'étude avec une faible proportion de repas mixte Homme-Animaux (Tableau VI).

**Tableau VI:** Préférence trophique des moustiques par localité

| (Août 2014)   |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       |        |
|---------------|------|--------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| ELISA         |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       |        |
| Repas de Sang |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       |        |
| Animaux       |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       |        |
| Homme         |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       |        |
| Mixte         |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       |        |
|               |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |       | Total  |
| Localité      | Bœuf | Mouton | Ane | Porc | Autre | Total | %     | Total | %     | Total | %     | Testés |
| Rengha        | 3    | 5      | 0   | 4    | 22    | 34    | 22,51 | 76    | 50,33 | 41    | 27,15 | 151    |
| Tangonko      | 0    | 2      | 0   | 0    | 3     | 5     | 3,70  | 7     | 5,18  | 123   | 91,11 | 135    |
| Tensobtenga   | 0    | 0      | 0   | 0    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 1     | 100   | 1      |
| Total         | 3    | 7      | 0   | 4    | 25    | 39    | 13,58 | 83    | 28,91 | 165   | 57,49 | 287    |

| (Sept. 2015) |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |      |        |
|--------------|------|--------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|--------|
| Animaux      |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |      |        |
| Homme        |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |      |        |
| Mixte        |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |      |        |
|              |      |        |     |      |       |       |       |       |       |       |      | Total  |
| Localité     | Bœuf | Mouton | Ane | Porc | Autre | Total | %     | Total | %     | Total | %    | Testés |
| Rengha       | 13   | 0      | 0   | 0    | 36    | 49    | 49,00 | 50    | 50,00 | 1     | 1,00 | 100    |
| Tangonko     | 4    | 2      | 0   | 0    | 35    | 39    | 40,20 | 58    | 59,79 | 0     | 0    | 97     |
| Tensobtenga  | 0    | 2      | 0   | 0    | 42    | 44    | 42,71 | 59    | 57,28 | 0     | 0    | 103    |
| Total        | 17   | 4      | 0   | 0    | 113   | 132   | 44,00 | 167   | 55,66 | 1     | 0,33 | 300    |

Sept. (Septembre)

**V.4.4. Taux de parturité d'*Anopheles gambiae s.l.***

Le taux de parturité d'*An. gambiae s.l.* a significativement varié d'une localité à une autre aussi bien en Août 2014, qu'en septembre 2015.

La proportion des femelles pares était globalement élevée en août, et variait légèrement mais de manière significative sur le plan statistique ( $\text{Khi}^2= 15,87$  ;  $p=0,003$ ) d'une localité à l'autre (99,31% à Rengha, 84,85% à Tangonko et 81,03% à Tensobtenga) (Tableau VII).

La proportion des femelles pares était faible dans toutes les localités en septembre 2015 comparée à Août 2014. Elle était significativement plus faible ( $\text{Khi}^2=5,24$  ;  $p=0,03$ ) à Rengha (38%) par rapport à Tangonko (68%) et Tensobtenga (76%) (Tableau VII).

**Tableau VII:** L'âge physiologique des moustiques par localité et par mois

| Mois                    | Localités   | Nombre de femelles disséquées | Nombre de femelles nullipares | Nombre de femelles pares | Nombre de femelles indéterminés | Taux de parturité (%) | Khi2  | P-value |
|-------------------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------|-------|---------|
| Août<br>(2014)          | Rengha      | 145                           | 1                             | 144                      | 0                               | 99,31                 | 15,87 | 0,003   |
|                         | Tangonko    | 99                            | 13                            | 84                       | 2                               | 84,85                 |       |         |
|                         | Tensobtenga | 58                            | 10                            | 47                       | 1                               | 81,03                 |       |         |
| Septem<br>bre<br>(2015) | Rengha      | 150                           | 85                            | 57                       | 8                               | 38                    | 5,24  | 0,03    |
|                         | Tangonko    | 150                           | 39                            | 102                      | 4                               | 68                    |       |         |
|                         | Tensobtenga | 150                           | 32                            | 114                      | 4                               | 76                    |       |         |

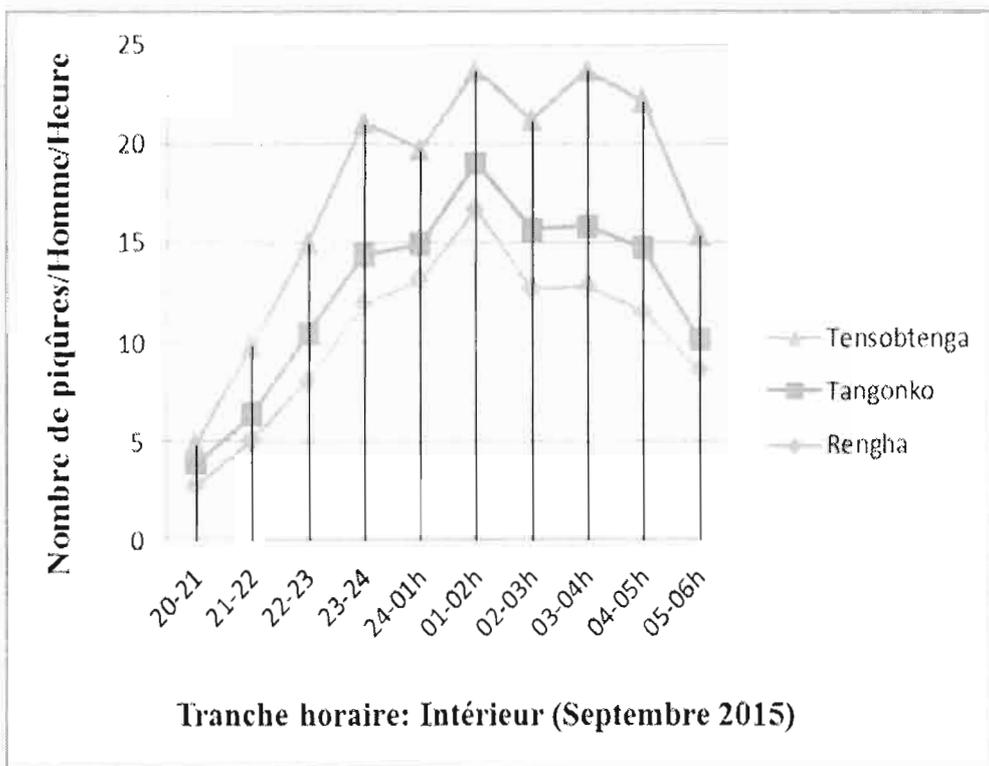
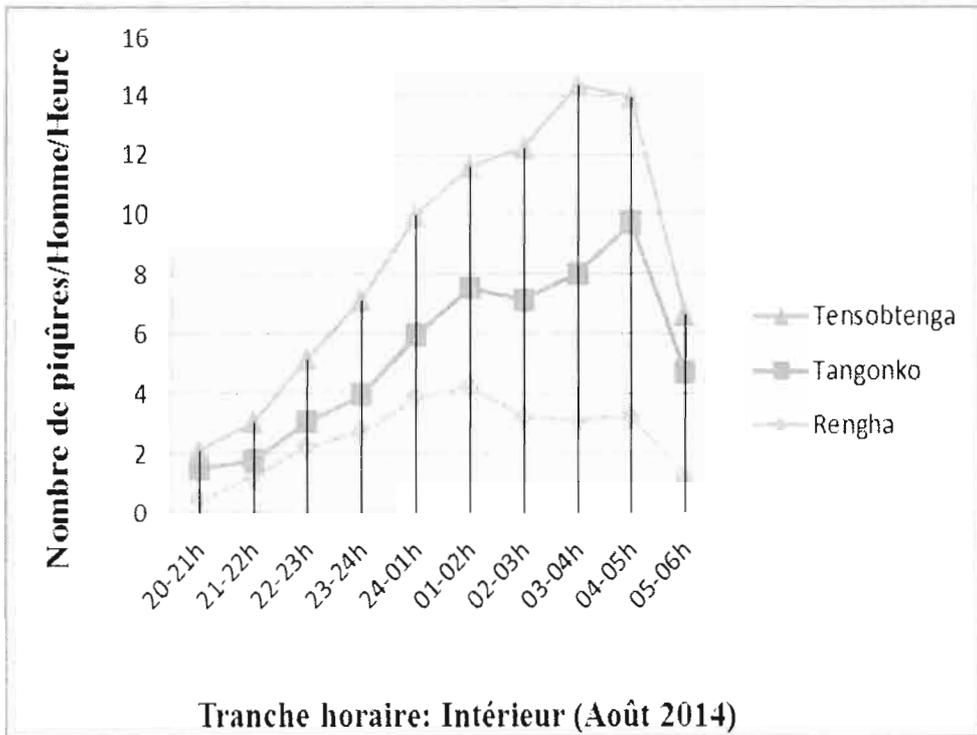
#### V.4.5. Dynamique horaire de piqûre des vecteurs par localité

Un total de 5170 femelles *d'An. gambiae s.l.* a été capturé à l'intérieur des maisons contre 3944 femelles *d'An. gambiae s.l.* à l'extérieur sur des sujets humains au cours de notre période de collecte.

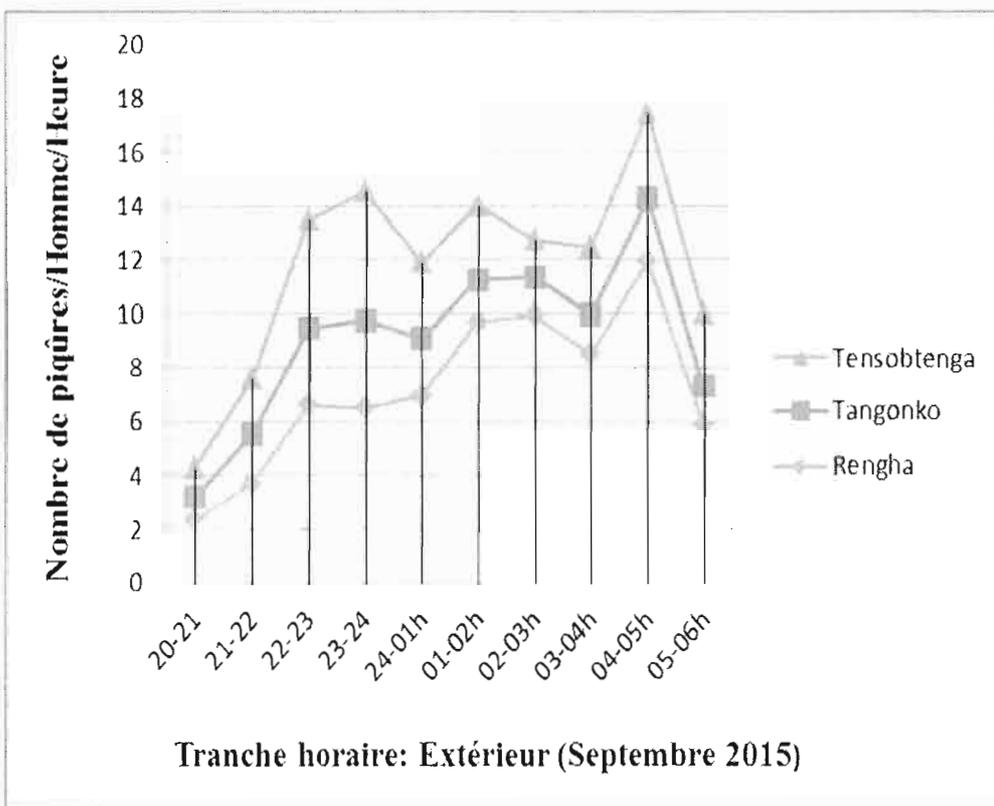
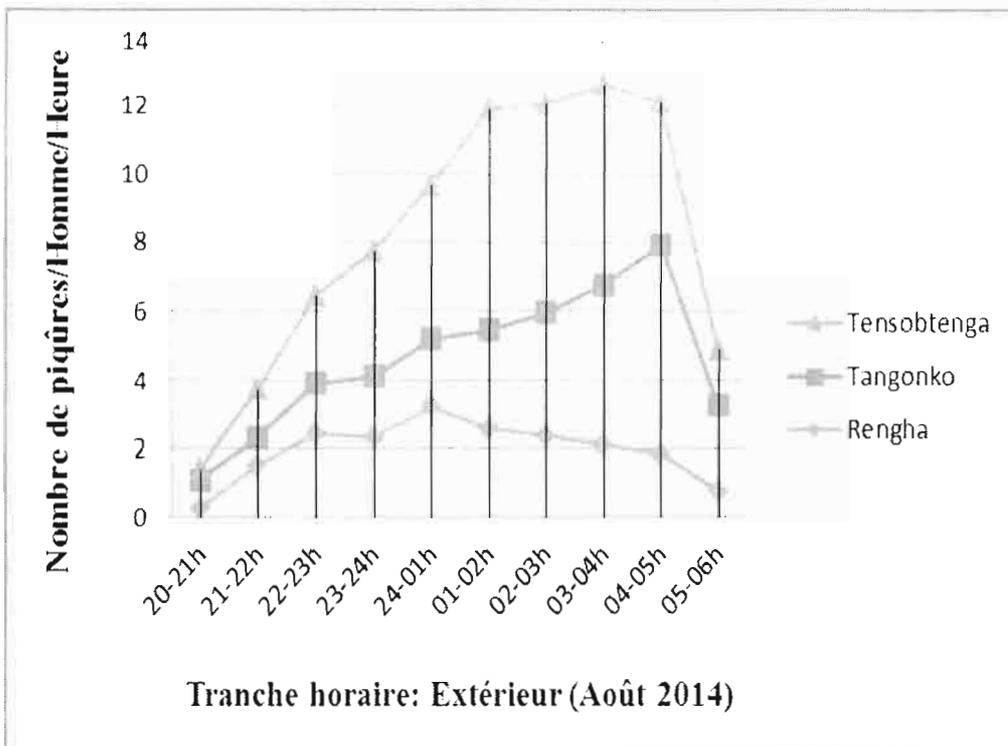
Le cycle d'agressivité a correspondu au nombre moyen de piqûres reçu par un individu, au cours d'une heure à l'intérieur ou à l'extérieur d'une maison pendant la nuit. Le cycle d'agressivité *d'An. gambiae s.l.* peut être divisé en quatre grandes périodes (Figure 8 et 9) :

- Entre 20 h et 24 h, les femelles présentaient une faible activité de piqûre dans tous les sites d'étude.
- Entre 24 h et 03 h, l'agressivité était en constante progression pour atteindre son pic à 04 h du matin.
- Entre 04 h et 05 h du matin, l'agressivité est maximale avec plus 50% de femelles en activité.
- A partir de 05 h, l'agressivité chute progressivement jusqu'à 06 h du matin.

L'agressivité des femelles *d'An. gambiae s.l.* était donc majeure entre 24 h et 04 h du matin. Les femelles collectées à l'extérieur des maisons avaient une activité agressive très élevée par rapport à celles qui ont été capturées à l'intérieur des maisons.



**Figure 8:** Dynamique horaire de piqûre des vecteurs à l'intérieur des maisons.



**Figure 9:** Dynamique horaire de piqûre des vecteurs à l'extérieur des maisons.

#### V.4.6. Taux d'infection des vecteurs à *W. bancrofti*

Sur les 100 moustiques testés par localité en PCR, en août 2014, repartis en pool de 10, aucun des pools n'était infecté. Ainsi donc, l'indice microfilarien ou taux d'infection des vecteurs était nul quelle que soit la localité (Tableau VIII). Par contre, en septembre 2015, nous avons trouvé 1 pool positif sur 10 testés à Tensobtenga, donc une prévalence de 1,04% IC [0,03-5,2]. Ce qui donne une prévalence globale de 0,16% IC [0,005-0,861] en 2015.

**Tableau VIII:** Indice microfilarien des vecteurs à *W. bancrofti*

| Mois                | Localité    | Nombre de pools | Nombre d'échantillon/pool | Positifs | prévalence de l'infection | 95% CI       |
|---------------------|-------------|-----------------|---------------------------|----------|---------------------------|--------------|
| Août<br>(2014)      | Rengha      | 10              | 10-10                     | 0        | 0                         | 0            |
|                     | Tangonko    | 10              | 10-10                     | 0        | 0                         | 0            |
|                     | Tensobtenga | 10              | 10-10                     | 0        | 0                         | 0            |
|                     | Total       | 30              | 10-10                     | 0        | 0                         | 0            |
| Septembre<br>(2015) | Rengha      | 10              | 10-10                     | 0        | 0                         | 0            |
|                     | Tangonko    | 10              | 10-10                     | 0        | 0                         | 0            |
|                     | Tensobtenga | 10              | 10-10                     | 1        | 1,04                      | 0,03-5,2     |
|                     | Total       | 30              | 10-10                     | 1        | 0,16                      | 0,0051-0,861 |

#### V.4.7. Taux d'agressivité et taux d'inoculation entomologique des vecteurs

Dans chacun des sites d'étude, le taux d'agressivité ne présente pas une différence significative entre les femelles *d'An. gambiae s.l.* endophages et les femelles exophages.

En août 2014, nous avons observé dans toutes les localités d'étude, 82,3 p/h/nuit à l'intérieur des maisons contre 78,6 p/h/nuit à l'extérieur des habitations.

En septembre 2015, ce taux était maximal avec 176,2 p/h/nuit à l'intérieur des maisons contre 118,6 p/h/nuit à l'extérieur des maisons. Le taux d'inoculation entomologique était nul en 2014. En 2015, il a été estimé à 0,53% à l'intérieur des maisons et 0,28% à l'extérieur des maisons à Tensobtenga (Tableau IX).

**Tableau IX:** Taux d'agressivité et taux d'inoculation entomologique d'*Anopheles gambiae s.l.*

| Mois                | Localité    | ma par localité |       | Khi2 | P-value | TIE par localité |      |
|---------------------|-------------|-----------------|-------|------|---------|------------------|------|
|                     |             | Int             | Ext   |      |         | Int              | Ext  |
| Août<br>(2014)      | Rengha      | 24,8            | 18,45 | 1,01 | 0,60    | 0                | 0    |
|                     | Tangonko    | 25,85           | 25,2  |      |         | 0                | 0    |
|                     | Tensobtenga | 31,65           | 34,95 |      |         | 0                | 0    |
|                     | Total       | 82,3            | 78,6  |      |         | 0                | 0    |
| Septembre<br>(2015) | Rengha      | 102,9           | 72,05 | 1,58 | 0,45    | 0                | 0    |
|                     | Tangonko    | 22,25           | 19,1  |      |         | 0                | 0    |
|                     | Tensobtenga | 51,05           | 27,45 |      |         | 0,53             | 0,28 |
|                     | Total       | 176,2           | 118,6 |      |         | 0,53             | 0,28 |

**ma** : Taux d'agressivité; **TIE** : Taux d'Inoculation Entomologique

#### V.4.8. La distribution des gènes de résistance aux pyréthriinoïdes chez les populations *An. gambiae s.l.*

La mutation *kdr L1014F* a été observée à des fréquences variant entre les espèces d'*An. gambiae s.l.* (Tableau X). Elle était plus élevée, soit 80% chez l'*An. gambiae* à Tangonko et 93,3% à Tensobtenga en août 2014. Pour l'*Anopheles coluzzi*, sa fréquence allélique est élevée 53,3% à Rengha. En septembre 2015, cette fréquence est maximale, 68,3% à Rengha pour l'*An. coluzzi*. A l'inverse, la mutation *kdr L1014F* avait une fréquence faible 45% à Tangonko et 30% à Tensobtenga pour *An. gambiae*.

Quasi absent, l'*An. arabiensis* avait une fréquence très faible (5% à Rengha et 6,7% à Tangonko).

**Tableau X:** Les fréquences alléliques de la mutation *kdr L1014F* par localité

| Mois                 | Localités   | <i>An.gambiae</i> <i>Kdr L1014F</i> | F(R)%        | <i>An.coluzzi</i> <i>Kdr L1014F</i> | F(R)% | <i>An.arabiensis</i> <i>Kdr L1014F</i> | F(R)% |   |             |     |
|----------------------|-------------|-------------------------------------|--------------|-------------------------------------|-------|--|-------|---|-------------|-----|
| Août(2014)           | Rengha      | 3                                   | 3RR          | 10                                  | 24    | 12RR+10RS+2SS                          | 53,3  | 3 | 1RR+1RS+1SS | 5   |
|                      | Tangonko    | 24                                  | 24RR         | 80                                  | 4     | 4RR                                    | 13,3  | 2 | 2RR         | 6,7 |
|                      | Tensobtenga | 29                                  | 28RR+1SS     | 93,3                                | 1     | 1RR                                    | 3,33  | - | -           | -   |
| Septembre.<br>(2015) | Rengha      | 5                                   | 3RR+1RS+1SS  | 11,7                                | 25    | 18RR+5RS+2SS                           | 68,3  | - | -           | -   |
|                      | Tangonko    | 17                                  | 12RR+3RS+2SS | 45                                  | 13    | 12RR+1RS                               | 41,7  | - | -           | -   |
|                      | Tensobtenga | 10                                  | 8RR+2RS      | 30                                  | 20    | 12RR+2RS+6SS                           | 43,3  | - | -           | -   |

## DISCUSSION

## **VI. DISCUSSION**

### **VI.1. L'intérêt de la surveillance entomologique**

L'objectif du Programme mondial d'élimination de la filariose lymphatique est d'interrompre la transmission d'ici 2020 avec comme stratégie le traitement de masse. Le contrôle des vecteurs intervient comme une stratégie de soutien indispensable pour achever l'interruption de la transmission en cas de difficultés. L'étude des indicateurs entomologiques de la transmission est donc nécessaire pour la mise en œuvre de toute activité de lutte antivectorielle. Cette présente étude nous a permis donc de déterminer les paramètres entomologiques (densité culicidienne, agressivité, diversité anophélienne, préférence trophique, indice microfilarien, taux de parturité) des vecteurs dans la région du Centre-Est associés à la transmission de *W. bancrofti*.

### **VI.2. La diversité de la faune vectorielle en genre**

Un total de 12552 moustiques a été collecté. Les *Culicidae* étaient composés de 93,56% du genre *Anopheles*, de 6,04% du genre *Culex* et de 0,40% du genre *Aedes*. Ce résultat confirme une colonisation importante du genre *Anopheles* en milieu rural due à la disponibilité de petites collections d'eau non polluées, propices à leur développement larvaire (33,34).

### **VI.3. La diversité de la faune anophélienne**

Les résultats de nos analyses ont montré que l'*An. gambiae s.l.* prédominait nettement dans toutes les localités d'étude durant les périodes de collecte (août 2014 et septembre 2015). Un seul spécimen d'*An. funestus* a été observé en septembre 2015 à Tangonko. Des études antérieures faites dans la même région avaient rapporté des résultats similaires de la prédominance d'*An. gambiae s.l.* et de l'apparition d'une faible population d'*An. funestus* vers la fin de la saison des pluies (35).

Les espèces du complexe *An. gambiae s.l.* identifiées sont *An. coluzzii*, *An. gambiae*, et *An. arabiensis*. Leur densité n'a pas beaucoup varié au cours de ces deux périodes de collecte. En effet, *An. coluzzii* et *An. gambiae* ont été trouvées majoritaire avec plus de 90% dans chacune des localités d'étude quelle que soit la période de collecte. Les études faites dans la même région (soudano-sahélienne) par d'autres auteurs (35–38) ont trouvé une prédominance d'*An. coluzzii* et d'*An. gambiae* majoritairement en sympatrie avec *An. arabiensis*.

### **VI.4. Comportement de la faune anophélienne, résistance aux pyréthriinoïdes chez les populations *An. gambiae s.l.***

L'état de réplétion des femelles anophéliennes a été étudié sur les moustiques collectés en faune résiduelle par PID. Les résultats de nos analyses ont montré que sur un total de 2521

femelles d'*An. gambiae s.l.* collectées, plus de 80% (2194/2521) étaient, soit des femelles gorgées ou gravides pendant la période de l'étude (août 2014 et septembre 2015). Ce résultat est conforme aux observations réalisées antérieurement dans la région de savane d'Afrique de l'Ouest (39). Le taux d'anthropophilie était élevé dans toutes les localités, soit par un repas uniquement sur l'Homme (42,58%) soit par des repas mixtes Homme-Animaux (28,27%). D'autres auteurs en Afrique de l'Ouest trouvaient des taux supérieurs comparativement aux nôtres. C'est le cas en Côte d'Ivoire dans la région du Sud-Est à Adzopé où Akré *et al.*, avaient trouvé un taux d'anthropophilie de 97 % dans les habitations (40). Le taux de gorgement des femelles sur l'Homme ou anthropophilie étant donc la condition *sine qua non* de la transmission du parasite (*W. bancrofti*), donc pourrait expliquer la microfilarémie persistante dans cette localité malgré plus de 5 tours de TDM (41).

La proportion des femelles pares a été globalement élevée en août, et variait légèrement mais de manière significative sur le plan statistique ( $\text{Khi}^2=15,87$  ;  $p=0,003$ ) d'une localité à l'autre (99,31% à Rengha, 84,85% à Tangonko et 81,03% à Tensobtenga). La proportion des femelles pares était faible dans toutes les localités en septembre 2015. En général, les résultats de la littérature montraient une population anophélienne plus âgée en septembre qu'en août (45). Nos résultats sur la dynamique mensuelle de la parturité, contraires à la littérature pourraient s'expliquer par le fait qu'en septembre 2014, un TDM suivi d'une distribution de MILDA ont eu lieu dans cette localité diminuant ainsi la longévité des vecteurs (33).

Quant au comportement de piqûre d'*An. gambiae s.l.* tel que nous l'avons observé dans la région du Centre-Est, il est caractérisé par un pic au milieu de la nuit, c'est-à-dire entre 23 h et 4 h du matin. Plusieurs études montrent effectivement une agressivité nocturne des anophèles (44). Cela suggère qu'une protection contre le contact Homme/vecteur par une barrière physico-chimique efficace réduirait considérablement le risque de recevoir une piqûre infectante. Les Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action (MILDA) représenteraient, dans ce contexte, un outil approprié dans la lutte contre la filariose lymphatique (46). En outre, son utilisation à large échelle participe à la diminution de la densité des populations vectrices et assure une protection générale à toute la communauté (47,48). Cependant, le taux de couverture en MILDA dans la localité a été estimé à 80,9% en 2014 (49). Malgré ce taux fort, le Centre-Est est classé parmi les zones de transmission persistante à la filariose lymphatique. Une des explications pourrait être le fort taux de la mutation *kdr*. La mutation *kdr* confère la résistance des vecteurs aux pyréthrinoïdes, qui sont la classe d'insecticide utilisés dans l'imprégnation des moustiquaires.

En effet, La mutation *kdr L1014F* a été observée à des fréquences variant entre les espèces *d'An. gambiae s.l.* Les maxima ont été observés à Tangonko, 62,5% et à Tensobtenga, 61,5% pour *l'An. gambiae* et les minima sont notés à Rengha, 10,85% quel que soit la période de collecte. A l'inverse, la fréquence de la mutation *kdr* était relativement élevée à Rengha, 60,8% et très faible (27,5% à Tangonko et 23,31% Tensobtenga) pour *l'An. coluzzii*. La forte fréquence du gène *kdr L1014F* observée serait due à l'utilisation intensive des pesticides dans l'agriculture comme signalé dans plusieurs études (50,51). Le lien entre la résistance anophélienne aux insecticides et l'utilisation des pesticides a été évoqué dans plusieurs études. Au Burkina Faso, il a été observé une corrélation entre le niveau de résistance et la culture du coton conventionnel (35). Dans les régions des Haut-Bassins, de la boucle du Mouhoun, du Sud-Ouest et des Cascades, à forte production cotonnière au Burkina Faso, des fréquences des mutation *kdr* (>60%) ont été observées (35,36).

#### **VI.5. Indice microfilarien**

Sur un total de trente pools, soit 300 moustiques collectés par la CSH, le taux d'infection *d'An. gambiae s.l.* était nul en août 2014 pour *W. bancrofti*. Par contre, en septembre 2015, nous avons trouvé 1 pool positif sur 10 testés à Tensobtenga, donc une prévalence de 1,04% IC [0,03-5,2] sur un total de 6118 moustiques collectés par la CSH. Ce qui donne une prévalence globale de 0,16% IC [0,005-0,861] en 2015. Les résultats du taux d'infection microfilarien nul en 2014 et de 0,16% en 2015 montrent une baisse de la transmission de la filariose lymphatique au Centre-Est car inférieur au seuil de 1% fixé par l'OMS. Ces résultats du taux d'infection microfilarien doivent être confirmés en testant un effectif plus important de moustiques (10000 spécimens) comme le suggère l'OMS (16).

Ces taux d'infection sont relativement très faibles par rapport à ceux rapportés par d'autres auteurs au Nigéria et au Mali (52,53). Dans d'autres régions du monde tel qu'au Brésil le vecteur majeur de la transmission de *W. bancrofti* serait *Culex quinquefasciatus* avec un taux de 1,6% (54).

L'agressivité *d'An. gambiae s.l.* pour l'Homme était beaucoup plus marquée dans chacun des sites d'étude, avec des taux de 75 p/h/nuit en août 2014. Les maxima ont été observés avec plus 100 piqûre/homme/nuit en septembre 2015. Cela témoigne une agressivité massive *d'An. gambiae s.l.* dans ces différentes localités.

Quant au TIE, il était nul dans toutes les localités d'étude en août 2014. A l'inverse, il était moyen, 0,40 piqûre infestante/homme/nuit en septembre 2015. Même si, nous n'avons pas testé la présence du parasite chez *Culex* et *Aedes*, la densité élevée *d'An. gambiae s.l.*, son anthropophilie élevée, et le fait qu'il a été trouvé infecté, témoignent qu'il pourrait être le

principal vecteur de la filariose lymphatique dans la région du Centre-Est du Burkina Faso. Des études faites au Ghana et au Nigéria ont rapporté qu'*An. gambiae s.l.* était le principal vecteur de la filariose lymphatique en Afrique de l'Ouest (55,56).

CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES

## VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude sur la transmission entomologique de la filariose lymphatique apporte des informations importantes au programme national de lutte contre la filariose lymphatique. En effet, avec une anthropophilie élevée, *An. gambiae* serait le vecteur majeur de la transmission de *W. bancrofti*. Le risque de piqûre, donc de la transmission était maximal entre 24 h et 04 h du matin. Le risque de transmission réside aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des maisons mais plus élevé à l'intérieur. Le niveau élevé de la mutation *kdr* suggère une réflexion d'intégrer d'autres outils de lutte anti vectorielle tels que la PID sur les murs avec les carbamates pour l'atteinte des objectifs d'élimination en 2020.

En perspectives, la xénosurveillance moléculaire devrait être couplée à la surveillance parasitologique dans toutes les localités du Burkina Faso pour évaluer l'impact des TDM et surtout avant toute initiative d'arrêt de traitement. Il serait également important, d'apprécier l'infectivité des autres genres de *Culicidae* surtout en milieu urbain, où nous avons une densité importante de *Culex*.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Ramzy R. M. R., Setouhy M. E., Helmy H., Ahmed E. S., Elaziz K. M. A., Farid H. A., et al.**, Effect of yearly mass drug administration with diethylcarbamazine and albendazole on bancroftian filariasis in Egypt: a comprehensive assessment. *Lancet* 367:992-99. 2006;
2. **Thomas B. N.**, Lymphatic filariasis: new insights and prospects for control. *Curr Opin Infect Dis* 14539-546. 2001;
3. **Boakye D. A., Baidoo H. A., Glah E., Brown C., Appawu M., Wilson M. D.**, Monitoring lymphatic filariasis interventions: Adult mosquito sampling, and improved PCR – based pool screening method for *Wuchereria bancrofti* infection in *Anopheles* mosquitoes. *Filaria J* 613. 2007;6:1–6.
4. **Stone C. M., Lindsay S. W., Chitnis N.**, How Effective is Integrated Vector Management Against Malaria and Lymphatic Filariasis Where the Diseases Are Transmitted by the Same Vector? *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(12).
5. **Goldman A. S., Guisinger V. H., Aikins M., Amarillo M. L. E., Vicente Y., Garshong B., et al.**, National Mass Drug Administration Costs for Lymphatic Filariasis Elimination. *PLoS Negl Trop Dis*. 2007;1(1).
6. **Aubry P.**, Filariose lymphatique, actualités 2015. *Med Trop*. 2015;1–6.
7. **Bougma R., Chu B. K., Deming M., Biritwum N., Mercado L., El-setouhy M., et al.**, Transmission Assessment Surveys ( TAS ) to Define Endpoints for Lymphatic Filariasis Mass Drug Administration : A Multicenter Evaluation. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(12).
8. **Srividya A., Das P. K., Subramanian S., Ramaiah K. D.**, Past exposure and the dynamics of lymphatic filariasis infection in young children. *Epidemiol Infect* 117, 195-201. 1996;
9. **OMS.**, Evaluation épidémiologique du traitement médicamenteux de masse pour l'élimination de la filariose lymphatique. Genève; 2014.
10. **Williams S. A., Laney S. J., Bierwert L. A., Saunders L. J., Boakye D. A., Fischer P., et al.**, Development and standardization of a rapid, PCR-based method for the detection of *Wuchereria bancrofti* in mosquitoes , for xenomonitoring the human prevalence of bancroftian filariasis. *Ann Trop Med Parasitol* 2 41-46. 2015;96.
11. **Ottesen E. A., Duke B. O. L., Karam M., Behbehani K.**, Strategies and tools for the control / elimination of lymphatic filariasis. *Trop Dis* 75491-503. 1997;(4).
12. **Kyelem D., Biswas G., Bockarie M. J., Bradley M. H., El-Setouhy M., Fischer P. U., et al.**, Determinants of Success in Programs to Eliminate Lymphatic Filariasis: A perspective Identifying Essential Elements and Research Needs. Publ Final Ed form of Ann Trop Med Parasitol

2008 Oct ; 79(4) 480–484.

13. **Kron M., Walker E., Hernandez L., Torres E.,** Lymphatic Filariasis in the Philippines: Department of Medicine Reviews, *Division of Infectious Diseases. Reviews.* 2000;4758:329–33.

14. **Kima A.,** Lutte contre la filariose lymphatique au Burkina Faso 2001-2011 : Etat des lieux. *Thèse de doctorat.* Université de Ouagadougou, Burkina Faso; 2012.

15. **Balam S.,** Impact du traitement de masse sur l'infection et la transmission de la filariose lymphatique par l'association albendazole/ivermectine en Zone de savane sud soudanienne, Mali. *Thèse de doctorat.* Université de Bamako; 2007.

16. **OMS.,** Rapport de situation 2000-2009 et plan stratégique 2010-2020 : Filariose lymphatique : Pratique entomologique. France; 2013.

17. **Chanteau S., Roux J. F.,** Filariose lymphatique de Bancroft: vers l'élimination dans le Pacifique ? *Bull Soc Pathol Exot*, 101, 3, 254-260. 2008;(1).

18. **OMS.,** Weekly epidemiological record : Relevé épidémiologique hebdomadaire, Programme mondial pour l'élimination de la filariose lymphatique. Genève; 2010 Jun;(38):365–72.

19. **Pichon G.,** Limitation and facilitation in the vectors and other aspects of the dynamics of larial transmission: the need for vector control against *Anopheles* -transmitted filariasis *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 2 :143-152. 2002;96.

20. **Ngurdoto L. A.,** Cinquième réunion de l' Alliance Mondiale pour l' Élimination de la Filariose Lymphatique. Tanzanie; 2008.

21. **Jones C.,** Prevalence of *Wuchereria bancrofti* antigenemia and associated factors among children of school age born after initiation of mass drug administration with ivermectin and albendazole in Rufiji district, Tanzania. *Muhimbili University of Health and Allied Sciences*; 2012.

22. **Jullien P., Somé J., Badini O., Brantus P., Bagnoa C., Bougma R. W., et al.,** Evaluation d'un programme de washing, traitement de la filariose lymphatique dans huit districts du Burkina Faso. Ouagadougou, Burkin-Faso; 2009.

23. **Raccurt C.,** Filariose lymphatique et urbanisation en Haïti : Impact de l'environnement. 2008.

24. **Wamae C. N., Njenga S. M., Ngugi B. M., Mbui J., Njaanake H. K.,** Evaluation of effectiveness of diethylcarbamazine / albendazole combination in reduction of *Wuchereria bancrofti* infection using multiple infection parameters *Acta Tropica* : 33-38. Elsevier B.V. ; 2011;6.

25. **Paul E. S., Mwele N. M., Edwin M., Charles D. M.,** Lymphatic filariasis: research and

control in Eastern and Southern Africa. *DBL-Center for Health Research and Development*. Denmark; 2008. 194 p.

26. **INSD.**, La région du Centre-Est en chiffres. Edition 2007. Ouagadougou, Burkina Faso; 2007.

27. **Hamon J., Chauvet G., Thitlin L.**, Observations sur les méthodes d'évaluation de l'âge physiologique des femelles d'anophèles. *Bull. Org. mond. Sante*, 24:437-443. 1961;

28. **Léong P. T. J.M., Elissa N., Ouledi A., Arieu F., Duchemin J. B. R V.**, Caractérisation moléculaire des moustiques du complexe du complexe *Anopheles gambiae* à Mayotte et à Grande Comore. *Parasite journal org.*, 10 :273-276. 2003;

29. **Fischer P., Kamal I. H. Williams S. A.**, Development of a quantitative, competitive polymerase chain reaction -enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Wuchereria bancrofti* DNA. *Parasitol Res.* 85: 176-183. 1999;

30. **Pewpan M. I., Thanchomnang T. V. L., Wanchai M.**, Rapid Detection of *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi* in Mosquito Vectors ( *Diptera : Culicidae* ) Using a Real-Time Fluorescence Resonance Energy Transfer Multiplex PCR and Melting Curve Analysis Rapid Detection of *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi*. *J Med Entomol* 46(1)158-164. 2009;

31. **Katholi C. R., Toe L., Merriweather A., Unnasch T. R.**, Determining the Prevalence of *Onchocerca volvulus* Infection in Vector Populations by Polymerase Chain Reaction Screening of Pools of Black Flies. *Journal of Infectious Diseases*, 172:1414-7. 1995;

32. **Beier J.C., Perkins P.V., Wirtz R.A., Koros J., Diggs D., Gargam T. P.I .I., et al.**, Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tested on *Anopheles* (*Diptera : Culicidae*) in Kenya. *J. Med. Entomol.* 25: 9-16. 1988;

33. **Pooda H. S., Rayaisse J. B., Hien D. F., Lefèvre T., Yerbanga S. R., Bengaly Z., et al.** Administration of ivermectin to peridomestic cattle: a promising approach to target the residual transmission of human malaria. *Malar J.* 2015;10(13):496.

34. **Manyi M. M., Imandeh G. N., Azua E. T.**, Vectorial Potential of *Anopheles* and *Culex* species in the Transmission of Bancroftian Filariasis in the Localities of Makurdi, North Central Nigeria. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2 (5): 171-177. 2014;

35. **Dabiré K. R., Diabaté A., Namountougou M., Djogbenou L., Wondji C., Chandre F., et al.**, Trends in Insecticide Resistance in Natural Populations of Malaria Vectors in Burkina Faso , West Africa : 10 Years ' Surveys. *Insectic – Pest Eng.* 2012;22:480–502.

36. **Namountougou M.**, Evaluation de la résistance des populations d'*Anopheles gambiae* s.l. aux insecticides dans les faciès cotonniers du Burkina Faso. *Thèse de doctorat* Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso; 2013.

37. **Gillet J. L., Grimaldi N., Gillet N. Am C.,** Prise en charge des éléphantiasis (filariose lymphatique) et projet de création d'une Unité de Soins spécifique au Burkina-Faso. *Abstract In phlebology* 63,1:81-87. 2010;
38. **Mwingira U. J., Simonsen E. P., Kalinga A., Chikawe M. J., Mremi I., Nshala A. M., et al.,** Optimism for lymphatic filariasis elimination. *Annual Meeting States, United* 77:502. Copenhagen; 2012;
39. **Angyiereyiri D., E.** Impact of Mass Drug Administration ( MDA ) on the Transmission of Lymphatic Filariasis in Tono Irrigation Area in Navrongo , Ghana. *Journal of Biology.* 2015;5(9):68–77.
40. **Akré M. A., Kouassi R. A., Serge B. A., N'Dri L., Ahoua Y., Kouakou E. N.,** Etude du comportement au repos et des préférences trophiques des anophèles *gambiae* dans la ville d'Adzopé, Côte d'Ivoire. *Scientific Journal, ISSN.* 2015;11(3):398–410.
41. **Abdel D., Moudachirou I., Bougma W. R.,** Préparation, mise en application et évaluation du TDM: Leçons apprises en Haiti, au Bénin et au Burkina Faso. *Envision a world free of NTDs*,1-60. Ouagadougou, Burkina Faso.; 2015.
42. **Cohuet A., Harris C., Vincent R., Fontenille D.,** Evolutionary forces on *Anopheles*: what makes a malaria vector? *Trends in Parasitology*, 26(3) : 130-136. 2010;
43. **Seaman J. A., Alout H., Meyers J. I., Stenglein M. D., Dabiré R. K., Lozano-Fuentes S., et al.,** Age and prior blood feeding of *Anopheles gambiae* influences their susceptibility and gene expression patterns to ivermectin-containing blood meals. *BMC Genomics.* 2015;15(16):797.
44. **Konan Y. L., Koné A. B., Doannio J. M. C., Fofana D., Odehour-Koudou P.,** Transmission du paludisme à Tiassalékro, village de riziculture irriguée situé en zone sud forestière de Côte d'Ivoire. *Manuscrit n° 3203. « Santé publique »,* 102(1) :26-30. 2008;
45. **Machault V., Gadiaga L., Vignolles C., Jarjaval F., Bouzid S., Sokhna C., et al.,** Highly focused anopheline breeding sites and malaria transmission in Dakar. *Malaria Journal,* (8)138:1-21. 2009;21.
46. **Pedersen E. M., Stolk W. A., Laney S. J., Michael E.,** The role of monitoring mosquito infection in the Global Programme to Eliminate Lymphatic The role of monitoring mosquito infection in the Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. *ResearchGate*, 27:319-327. 2015;
47. **Malima R., Tungu P. K., Mwingira V., Maxwell C., Magesa S. M., Kaur H., et al.,** Evaluation of the long-lasting insecticidal net Interceptor LN: laboratory and experimental hut studies against anopheline and culicine mosquitoes in northeastern Tanzania. *Parasites &*

*Vectors* 6:296. 2013;

48. **Ashton R. A., Kyabayinze D. J., Opio T., Auma A., Edwards T., Matwale G., et al.,** The impact of mass drug administration and long-lasting insecticidal net distribution on *Wuchereria bancrofti* infection in humans and mosquitoes : an observational study in northern Uganda. *Parasites & Vectors* 4:134. 2011; Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/4/1/134>
49. **PNLP.,** Plan Stratégique de Lutte contre le Paludisme 2011-2015. Ouagadougou, Burkina Faso.; 2011.
50. **Ossè R., Gnanguenon V., Sèzonlin M., Aïkpon R., Padonou G., Yadouléton A., et al.,** Relationship between the presence of *kdr* and *Ace-1* mutations and the infection with *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae* s.s. in Benin. *Journal of Parasitology and Vector Biology* 4(3):31-39. 2012;
51. **Ndiath M. O., Cailleau A., Diedhiou S. M., Gaye A., Boudin C., Richard V., et al.,** Effects of the *kdr* resistance mutation on the susceptibility of wild *Anopheles gambiae* populations to *Plasmodium falciparum*: a hindrance for vector control. *Malaria Journal* (13)340 :1-8. 2014;
52. **Richards F. O., Eigege A., Miri E. S., Kal A., Umaru J., Pam D., et al.** Epidemiological and Entomological Evaluations after Six Years or More of Mass Drug Administration for Lymphatic Filariasis Elimination in Nigeria. *PLOS, Neglected Tropical Diseases*,. 2011;5(10):18.
53. **Coulibaly Y. I., Dembele B., Diallo A. A., Kristensen S., Konate S., Dolo H., et al.,** *Wuchereria bancrofti* transmission pattern in southern Mali prior to and following the institution of mass drug administration. *Parasites & Vectors*, 6:247. 2013;1-7.
54. **Rodolfo L., Fontes G., Souza J. D., Aranha A., Maria E., André E., et al.,** Major Article Survey of Bancroftian filariasis infection in humans and *Culex* mosquitoes in the western Brazilian Amazon region: implications for transmission and control. *Brasileira, Sociedade Tropical, De Medicina Korte*,. 2013;46:214-20.
55. **Eigege A., Kal A., Miri E., Sallau A., Umaru J., Mafuyai H., et al.,** Long-Lasting Insecticidal Nets Are Synergistic with Mass Drug Administration for Interruption of Lymphatic Filariasis Transmission in Nigeria. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;7:7-10.
56. **Appawu M. A., Dadzie S. K., Baffoe-wilmot A., Wilson M. D.,** Lymphatic filariasis in Ghana: entomological investigation of transmission dynamics and intensity in communities served by irrigation systems in the Upper East Region of Ghana. *Trop Med Int Heal*. 2001;6(7).

# ANNEXES

## ANNEXES

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

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

#### Préparation du CTAB 2%

| Réactifs            | Volume  | Concentration finale |
|---------------------|---------|----------------------|
| 1 M Tris HCl pH 8.0 | 100 ml  | 100 mM               |
| 0,5 M EDTA          | 20 ml   | 10 mM                |
| NaCl                | 81,8 g  | 1.4 M                |
| CTAB*               | 20 g    | 2 %                  |
| Eau distillé        | QSP 1 L |                      |

### **Annexe 2 : Détection du gène SINE 200X 6.1 locus, Santolamazza et al., 2008**

#### Amorces:

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

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

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

| Réactifs           | Concentration finale | Volume à prélever |
|--------------------|----------------------|-------------------|
| Tampon (Buffer)    | 5 X                  | 3 µl              |
| MgCl <sub>2</sub>  | 25 mM                | 0,6 µl            |
| dNTP               | 5 mM                 | 0,6 µl            |
| Primer F           | 20 µM                | 0,75 µl           |
| Primer R           | 20 µM                | 0,75 µl           |
| Eau ultra pure     |                      | 6,725 µl          |
| Taq DNA polymérase | 5 U/µl               | 0,075 µl          |
| DNA template       |                      | 2,5 µl            |

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

Taille des bandes attendues

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

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

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

### Annexe 3 : Diagnostic de la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest, Martinez-Torres D et al., 1998

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

Amorces :

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

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

| Réactifs           | Concentration finale | Volume à prélever |
|--------------------|----------------------|-------------------|
| Tampon (Buffer)    | 5 X                  | 2,5 µl            |
| MgCl <sub>2</sub>  | 25 mM                | 0,5 µl            |
| dNTP               | 5 mM                 | 0,5 µl            |
| Primer D1          | 10 µM                | 0,3 µl            |
| Primer D2          | 10 µM                | 0,3 µl            |
| Primer D3          | 10 µM                | 1 µl              |
| Primer D4          | 10 µM                | 1 µl              |
| Eau ultra pure     |                      | 6,35 µl           |
| Taq DNA Polymérase | 5 U/µl               | 0,05 µl           |
| DNA template       |                      | 2,5 µl            |

Amplification : 3' [30", 30", 10"] 35c @ 55°C

Taille attendue

D1/D2 : 293 bp

D1/D3 : 195 bp Résistant

D2/D4 : 137 bp Sensible

**Annexe 4 : Diagnostic moléculaire de *W. bancrofti***

Cette PCR utilise deux amorces NV1 et NV2.

Une amorce ascendante désignée par NV1 (5'-CGTGATGGCATCAAAGTAGCG-3') et amorce reverse par NV2 (5'-CCCTCACTTACCATAAGACAA C-3')

| Réactifs           | Concentration finale | Volume à prélever pour 1 échantillon (µL) |
|--------------------|----------------------|---|
| Eau stérile        |                      | 14,65                                     |
| Tampon (Buffer)    | 10X                  | 2,5                                       |
| MgCl <sub>2</sub>  | 50mM                 | 1,5                                       |
| dNTP               | 20mM                 | 0,25                                      |
| Primer NV1         | 10pmol/µL            | 0,5                                       |
| Primer NV2         | 10pmol/µL            | 0,5                                       |
| Taq DNA Polymérase | 5UI/µL               | 0,1                                       |
| DNA extract        |                      | 5   |

**Annexe 5 : ELISA repas de sang : Technique Didier Fontenille, d'après Beier JC et al. (et Sarthou pour la coloration) décembre 1998**

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

Pour 1/2 litre : - 2,5 g de caséine dans 50 ml de NaOH 0,1N;

faire bouillir jusqu'à totale dissolution

- ajouter 450 ml de PBS

- ajouter 0,025 % Tween 20 (soit 125 µl/1/2 l)

- ajouter 0,05 g Thiomerosal

- ajouter 0,01 g Phenol rouge

Agiter 2 h

-préparer le Tampon Citrate pH4 :

Pour 1 litre :

Acide citrique, 1 H<sub>2</sub>O 11,77 g

Hydroxyde de Sodium 4,48 g

Dissoudre la soude dans 200 ml d'eau bi distillée, puis l'acide citrique dans cette solution.

Ajouter 400 ml d'eau bi distillée. Ajuster le pH à 4 avec de l'acide Chlorhydrique 1N. Compléter à 1 l avec de l'eau bi distillée.

02 - Avec SPOTS (Confetti sur papier filtre) I Avec ABDOMENS COUPES (moustiques secs)

\* Découper le spot, le mettre I \* Broyer dans 250 µl de PBS

Env. dans 0,8 ml de PBS I

(selon la quantité probable de sang) I \* ajouter environ 750 µl de PBS

\* Vortexer 1 ou 2 fois I

\* Laisser au moins 1 h

03 - Préparer les témoins positifs : sang dilué au 1/100 en moyenne

10 µl de sérum d'espèce dans 1 ml de PBS (homme (1/100), poulet (1/200), bœuf (1/100), mouton (1/30), chèvre (1/30), porc (1/100), cheval (1/100), chien (1/100), rat,)

04 - Sensibiliser les plaques

Mettre 50 µl de solution de sang à tester par puits (un moustique par colonne)

05 -Incubation 3 h à la température de la pièce ou la nuit à + 4°C

06 -Préparer les anticorps spécifiques d'espèces marqués à la peroxydase :

Reconstituer les IgG marquées selon la notice. Garder au congélateur.

Pour une plaque il faut :

50 µl X 12 =600 µl (+50 µl) = 650 µl de solution de chaque Ig G marquées

Dilutions à faire (dilution à vérifier par un damier. fonction de la marque) :

Homme: 1/1000 2 µlIgG + 2 ml Tampon pour trois plaques

Boeuf: 1/1000 2 µlIgG + 2 ml Tampon

Poule: 1/2000 1 µlIgG + 2 ml Tampon

Mouton: 1/500 4 µlIgG + 2 ml Tampon

Cheval: 1/1000 2 µlIgG + 2 ml Tampon

Porc: 1/1000 2 µlIgG + 2 ml Tampon

Chien: 1/1000 2 µlIgG + 2 ml Tampon

Rat: 1/1000 2 µlIgG + 2 ml Tampon

07 - Ajouter dans chaque tube d'IgG marquées les sérums hétérologues au 1/1000ème. Exemple:

Tube anti homme : aux AC marqués anti-homme dans 4 ml tampon ajouter 4µl de sérum de bœuf + 4µl de sérum de poule + 4µl de sérum de mouton + 4µl de sérum de cheval + 4µl de sérum de porc + 4µl de sérum de chèvre + 4µl de sérum de chien etc.. (Tous les autres sérums sauf Homme)

08 - Laver 2 fois au PBS-Tween

09 - Distribuer 50 µl par puits de solution d'IgG marquées. Mettre une IgG par rangée

10 - Incubation 1 h à RT sur la paillasse

11 - VIDER LA PLAQUE. LAVER 4 FOIS AU PBS/TWEEN 20

12 - 10 minutes avant la fin de l'incubation préparée le substrat de la peroxydase (selon Lhuillier, Sarthouet *al*) :

Pour 3 plaques :

\* 5 mg d'Ortho-tolidinedans 0,25 ml de N,N-diméthylformamide

\* 30 ml de Tampon citrate

\* 12 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10% (ou 4 µl à 30%)

13 - Distribuer 100µl de substrat par cupule

14 - Incubation à l'obscurité, pendant 30 minutes (coloration bleue 620 nm)

15 - Blocage par 50 µl d'acide sulfurique 4N : Coloration jaune (450 nm)

16- Lecture à 620 et 450 nm sur le lecteur Elisa.