

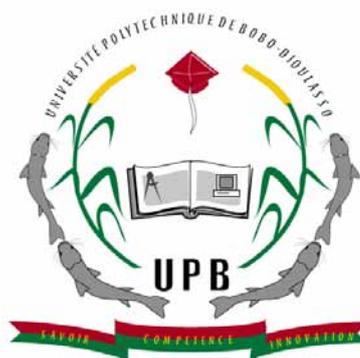
MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE ET SUPERIEUR

SECRETARIAT GENERAL

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE
DE BOBO-DIOULASSO

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

FORMATION DOCTORALE EN
PARASITOLOGIE MEDICALE



BURKINA FASO
Unité-Progrès -Justice

Année académique 2015 - 2016

Mémoire N°16.

Variation Spatiale de la Transmission du paludisme en Milieu Urbain : cas du district de Bamako, Mali.

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le **07 janvier 2016**

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

Par

Mr. Amadou TAPILY

JURY

Directeur du mémoire:
Mr. Roch DABIRE
Directeur de Recherche.

Président :
Mr. Robert Tinga GUIGUEMDE
Professeur Titulaire.

Co-directeur
Mr. Abdoulaye DABO
Maitre de Conférences.

Membres :
Mr. Ibrahim SANGARE
Assistant.

Hommages aux membres du jury :

A notre maître et Président du jury

Professeur Robert Tinga GUIGUEMDE

❖ Professeur titulaire de Parasitologie et de Mycologie à l'université de Ouagadougou et Bobo-Dioulasso.

❖ Ancien Doyen de l'INSSA.

❖ Chef de l'Unité de Recherche Paludisme et Maladies Tropicales Négligées.

❖ General de l'armée du Burkina FASO.

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

Vos qualités exceptionnelles de formateur, jointes à votre modestie font de vous un chercheur de référence. C'est un honneur pour nous d'être cité parmi vos élèves. Veuillez accepter le témoignage de notre sincère remerciement et de notre indéfectible disponibilité.

A notre maître et juge

Professeur Roch DABIRE, Directeur de recherche CAMES.

Directeur régional de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Bobo-Dioulasso.

Cher Maître, c'est un grand plaisir que vous nous faites en acceptant de siéger à ce jury.

Votre compétence, votre rigueur scientifique et la clarté de vos cours d'entomologie nous ont toujours émerveillé.

Recevez ici, cher maître notre reconnaissance et notre plus grand respect.

A notre Maître et juge

Professeur Abdoulaye DABO, Maître de Conférences de Parasitologie.

Chercheur au Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP);

Chef du Département d'Enseignement et de Recherche des Sciences Biologiques et Médicales à la Faculté de Pharmacie (FAPH);

Secrétaire Général de la Société Africaine de Parasitologie (SOAP)

Cher maître, notre vocabulaire n'est pas assez riche pour témoigner tous vos efforts consentis.

Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Votre simplicité, votre disponibilité constante, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous.

Trouvez ici, cher maître l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible attachement.

A notre Maître et juge

Docteur Ibrahim SANGARE,

Assistant de Recherche d'Entomologie et de Parasitologie.

Homme de science et chercheur dévoué, votre discrétion et votre abord facile font de vous un maître exemplaire. Permettez nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre grand respect.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mon Père **Feu Mamoudou Tapily** : Cher papa, que Dieu t'accueille dans son paradis, Amen !!! Nous t'accompagnerons toujours par des prières, dore en paix papa.

A ma mère **Fatoumata dite Ogotèmèlou Tapily** :

Ma très chère maman, quelle formule de remerciement et de reconnaissance pourrais-je employer aujourd'hui pour te rendre hommage ? Nous ne cesserons de te remercier chère maman.

A ma grand-mère **Feu Yapama Tapily** :

Femme réaliste, initiateure et inscripteure de Amadou Tapily à l'école, sache que tu vivras toujours dans nos mémoires. Puisse ton âme gagner le repos éternel. Amen !!.

A mon oncle **Abdramane Tapily et sa famille** :

Pour moi et mes frères tu as été un relai entre l'obscurité et la lumière. Ce travail est aussi le tien.

A ma chérie bien aimée **Fatoumata A Balam** :

Ma très chère épouse, tu as su me reconforter pendant les moments difficiles. Je ne te remercierais jamais assez pour le soutien que tu m'as apporté, puisse ce travail nous apporter davantage la joie et l'union. Soit assurée de mon profond amour. Que Dieu nous accorde toujours sa grâce. Amen !!!

A mes aînés, oncle, jeunes frères et soeurs : *Amadou S. Balam et sa famille, Souleymane Karambe et sa famille, Fatouma Abdoulaye Tapily et sa famille, Sékou Abdoulaye Tapily et sa famille, Hama dit Bôssè Tapily et sa famille, Moussa Tapily et sa famille, Djouldé Tapily et sa famille, Souleymane Tapily et sa famille, Djénéba dite Yapama Tapily, Adama Tapily* : Votre amour et votre compréhension m'ont toujours aidé. Que le désir de fraternité et de solidarité familiale toujours prôné par nos parents soit une force afin que nous soyons unis pour toujours. Ce travail est aussi le vôtre.

REMERCIEMENTS

A ALLAH !!!

Le "Tout Puissant", Le Miséricordieux pour m'avoir donné la santé et la force de réaliser ce travail.

Au Prophète Muhammad

(Paix et Bénédiction de Dieu sur Lui).

A la grande famille de l'IRSS/ DRO et du Centre Gaston MURAZ (Burkina Faso).

Le présent travail a été réalisé dans le cadre des activités de recherche de notre master au Burkina Faso, menées au MRTC à Bamako. Il a bénéficié du financement de l'EDCTP/MRTC et des personnes à qui nous adressons nos remerciements :

A tous nos **enseignants et facilitateurs** du master, nous leur disons merci pour les qualités de formations reçues. Nous avons le devoir de bien les transmettre.

Au **Professeur Robert T. GUIGUEMDE**, Chef de l'Unité de Recherche Paludisme et Maladies Tropicales Négligées pour les différentes formations dont nous avons bénéficié. Veuillez accepter nos sincères remerciements et notre profonde gratitude.

Au **Professeur Jean-Bosco OUEDRAOGO**, Ancien Directeur régional de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Bobo-Dioulasso merci pour nous avoir accueilli au sein de l'institution.

Au **Professeur Roch K. DABIRE** (Chef de service D'Entomologie), **au Professeur Abdoulaye DIABATE**, recevez ici toutes nos reconnaissances de formateurs de qualités et de conseils tout le long du master.

A **Mme Traore Brigitte** (Secrétaire du Professeur Robert T. GUIGUEMDE), merci Maman Burkina pour votre soutien moral et vos conseils à notre égard. Veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect et attachement.

Au **Docteur Tinto Halido**, Merci de vos conseils du cours nous ont permis de bien conduire ce travail.

Au **Professeur Sanata BAMBA**, Nous sommes convaincu de votre engagement dans la lutte contre les parasitoses, nous avons apprécié votre rigueur scientifique et votre sincérité du travail bien fait, font de vous un maître apprécié de tous. Soignez remercie infiniment.

A Messieurs Ali OUARI, Yarga Sibiri, Roger Sanou et Nana Ali et Barthelemi Semdé merci de nous avoir assisté dans nos travaux dirigés du master sur le terrain et au laboratoire.

A tous mes amis (es), collègues, camarades en particulier du master, Docteur Bakary Sidibé, Docteur Adama Lougué, Docteur Mamoudou CISSE, Monsieur Mahamadi Sawadogo, Docteur Ibrahim SANGARE, pour votre assistance et bonne collaboration.

A tout le personnel du l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé de la Direction Régional de Bobo (IRSS/DRO) et du Centre Muraz, merci pour l'accueil et le soutien apporté.

A la grande famille de MRTC :

Au Professeur Ogobara k. Doumbo : Les mots me manquent cher maître. Nous vous remercierons assez de porter le choix et la confiance sur nous, pour ce master. Nous sommes honoré d'être compté parmi vos élèves. Nous vous exprimons tous nos respects et attachement.

Au Professeur Abdoulaye Dabo : Nous vous remercierons assez d'avoir dirigé ce travail du début à la fin. Recevez ici toute notre gratitude et de profond respect.

Aux Professeurs : Amagana Dolo, Abdoulaye Djimdé, Alassane Dicko, Kouriba Bourema, Mahamadou Thera, Guimogo Dolo, Jean Gaudart, Daouda Minta.

Aux Docteurs : Issaka sagara, Doumbo Safi Niaré, Djidjé Dountabé, Mahamadou S. Sissoko, Abdoulaye K. koné, Charle Arama, Amed Ouattare, Ousmane Touré, Mamadou B. Coulibaly.
A monsieur Abdoulaye Guindo.

Aux Docteurs : Adama Dao, Alpha Seydou Yaro et Monsieur Moussa Diallo. Tous nos remerciements pour la franche collaboration.

Feu Professeur Madama Bouaré, Feu Professeur Amadou Ballo.

A tout le personnel du MRTC et du Service Center.

A tout le personnel de Az-SMC de Bougouni.

Toute la population de Bamako

Au projet EDCTP, au projet IRBA.

Nous leur disons merci pour les qualités et rigueurs de l'enseignement reçus.

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION.....	1
II. Objectifs.....	4
<u>Objectif général.....</u>	<u>4</u>
Objectifs spécifiques.....	4
Contexte de l'étude	4
III. GENERALITES SUR LES CULICIDAE.....	6
3.1. Systématique des Culicidae.....	6
3.2. Bio-écologie des <i>Culicidae</i>	7
3. 2. 1. Comportement des moustiques.....	7
3. 2. 2. Conditions de développements du moustique.....	9
3. 2. 3. Cycle biologique de l'anophèle.....	10
3. 2. 4. Identification morphologique des <i>Culicidae</i>	12
3. 2. 5. Cycle biologique du <i>Plasmodium</i>	12
3. 2. 5. 1. Cycle chez l'homme	12
3. 2. 5. 2. Cycle chez l'anophèle (cycle sporogonique).....	14
3. 3. Le paludisme.....	15
3. 3. 1. Répartition géographique du paludisme.....	16
IV. MATERIEL ET METHODES.....	18
4. 1. Zone d'étude.....	18
4. 2. Périodes d'étude.....	20
4. 3. Type d'étude.....	20
4. 4. Populations d'étude.....	20
4. 4. 1. Population humaine.....	20
4. 4. 2. Population de moustiques	20
4. 4. 3. Echantillonnage de la population humaine	20
4. 4. 4. Echantillonnage de la population culicidienne.....	21
4. 5. Capture sur appât humain	21
4. 6. Récolte de la faune résiduelle.....	22
4. 7. Traitement du matériel récolté.....	22
4. 8. Détermination de l'infection plasmodiale.....	22
4. 8. 1. Recherche de l'antigène circumsporozoïtique par la méthode ELISA-CSP chez le vecteur.....	22
4. 8. 2. Recherche des plasmodies par la technique de la goutte épaisse et du frottis mince chez l'Homme.....	24
4. 9. Saisie et analyse des données.....	24
4.10. Définition des paramètres entomologiques et <i>indice plasmodique</i> de la transmission du paludisme.....	25
4.11. Considérations éthiques.....	26
V. RESULTATS.....	27
5. 1. Résultats entomologiques.....	27
5. 1. 1. Composition et distribution de la faune culicidienne dans le district de Bamako...	27
5. 1. 2. Le taux d'agressivité	31
5. 1. 3. Taux d'infection du vecteur par l'antigène sporozoïtique et taux d'inoculation	34

entomologique.....	
5. 2. Résultats parasitologiques.....	35
5. 2. 1. Résultats démographiques.....	35
5. 2. 2. Taux de prévalence du paludisme déterminé en microscopie par la goutte épaisse dans le district de Bamako.....	35
5. 2. 3. Indice gamétocytaire.....	37
5. 3. Résultats cliniques.....	38
VI. DISCUSSION	39
6. 1. Cadre et site d'étude	39
6. 2. Distribution des différentes espèces de moustiques à Bamako.....	40
6. 3. Nuisance culicidienne.....	41
6. 4. Distribution de l'infection chez le vecteur	43
6. 5. Distribution de l'infection dans la population humaine	43
6. 6. Relation entre agressivité et infection dans la population humaine.....	45
VII. CONCLUSION	46
REFERENCES	47
ANNEXES	57

SIGLES ET ABREVIATIONS

ABTS : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique

AQ+SP : Amodiaquine et de Sulfadoxine-Pyriméthamine

An : *Anopheles*

BB: Blocking Buffer

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CI : Commune I

CII : Commune II

CIII : Commune III

CIV : Commune IV

CV : Commune V

CVI : Commune VI

CNOS : Centre National d'Odontostomatologie

CNRST : Centre National de Recherche Scientifique et Technologique.

CSP : *Circumsporozoïte*.

CTA : Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine.

°C : *degré Celsius*.

DEAP : Département d'Épidémiologiques des affections parasitaires.

DNS : Direction nationale de la santé.

DNSI : Direction Nationale de la Statistique et de l'Informatique.

EDCTP : European and Developing countries Clinical Trials Partnership

ED- SDS : Ecole Doctorales des Sciences De la Santé.

EDSM : Enquête Démographique et de Santé du Mali.

FAPH : Faculté de Pharmacie.

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

Fm : Frottis mince.

GE : Goutte épaisse.

GIS : Système d'Information géographique.

HCl : Chlorure d'Hydrogène.

h : heure.

IAS : Indice Antigène Sporozoïtique.

INSSA : Institut Supérieur des Sciences de la Santé.

IRBA : Institut de Recherche Biomédicale des Armées.

IRSS/DRO: Institut de Recherche en Sciences de la Santé/ Direction Régionale de l'Ouest.

IS : Indice Sporozoïtique

km : kilo mètre.

MILDA : Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action.

MRTC : Malaria Research and Training Center.

ml : millilitre

N : Nitric

n : nombre

NaOH : Hydroxyde de sodium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PBS : Phosphate Buffer Saline

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : Potentiel d'hydrogène

PID : Pulvérisation Intra Domiciliaire

P : Plasmodium

SLIS : Système local d'information sanitaire.

SOAP : Société Africaine de Parasitologie

TPIG-SP : Traitement Préventif Intermittent pendant la Grossesse à la Sulfadoxine-Pyriméthamine.

m. a : Taux d'anthropophilie

µl : microlitre.

UPB : Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso.

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Systématique des <i>Culicidae</i>	7
<u>Figure 2</u> : Cycle gonotrophique, comportement des adultes et méthodes de lutte associées aux différents stades de développement du moustique.....	9
<u>Figure 3</u> : Cycle de développement des moustiques.....	11
<u>Figure 4</u> : Critères de reconnaissance morphologique de différentes espèces de <i>Culicidae</i> ...	12
<u>Figure 5</u> : Cycle biologique du <i>Plasmodium</i>	15
<u>Figure 6</u> : Répartition des trente zones d'étude à travers le district de Bamako à partir des Images Satellitaires.....	19
<u>Figure 7</u> : Principe de l'ELISA pour la détection de la protéine CSP (taux d'infection).....	23
<u>Figure 8</u> : Distribution de la fréquence moyenne des <i>Culicidae</i> capturés au cours des trois passages (octobre 2011, août 2012 et octobre 2012 dans les trente zones enquêtées du district de Bamako.....	29
<u>Figure 9</u> : Taux d'infection d' <i>An. gambiae s.l</i> capturés sur appât humain à ELISA à Bamako...34	34
<u>Figure 10</u> : Répartition des participants par commune et par groupe d'âge dans le district de Bamako, octobre 2011, août et octobre 2012.....	35
<u>Figure 11</u> : Prévalence de <i>P. falciparum</i> et de <i>P. malariae</i> estimée en microscopie par goutte épaisse en fonction des communes du district de Bamako en octobre 2011.....	36

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Composition de la faune culicidienne capturée dans le district de Bamako en octobre 2011, août et octobre 2012.....	27
<u>Tableau II</u> : Répartition des formes chromosomiques d' <i>An.gambiae s.l</i> par commune....	28
<u>Tableau III</u> : Variation de la fréquence (%) des moustiques capturés sur appât humain par passage selon les espèces dans le district de Bamako.....	30
<u>Tableau IV</u> : Taux d'agressivité (m.a) comparée des <i>Culicidae capturés</i> sur appât humain par passage et par zone dans le district de Bamako.....	31
<u>Tableau V</u> : Variation spatiale du taux d'agressivité (m.a) d' <i>Anopheles gambiae s.l</i> capturé sur appât humain dans le district de Bamako.....	32
<u>Tableau VII</u> : Variation spatiale du taux d'agressivité (ma) des <i>Aedes</i> capturés sur appât Humain dans le district de Bamako.....	33
<u>Tableau VIII</u> : Variation de la prévalence de l'infection en fonction de l'agressivité dans les zones de capture sur appât humain dans le district de Bamako.....	37
<u>Tableau IX</u> : Répartition des sujets fébriles déclarés au cours des 15 derniers jours qui ont Précédé l'enquête.....	38

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Capture sur appât humain	21
Annexe 2 : Récolte de la faune résiduelle (Spray catch).....	22
Annexe 3 : Recherche de l'antigène circumsporozoïtique par la méthode ELISA-CSP chez le vecteur	22
Annexe 4 : Recherche des plasmodies par la technique de la goutte épaisse et le frottis mince chez l'homme.....	24

RESUME

Introduction –En dépit des progrès notables enregistrés récemment dans la lutte contre le paludisme, cette affection constitue toujours une menace sérieuse pour les populations des zones d'endémie. A Bamako, la recrudescence des épisodes de paludisme et les taux élevés de morbidité et de mortalité font du paludisme un problème émergent majeur de santé publique. L'objectif de la présente étude était d'évaluer le risque de transmission du paludisme par la description des populations de moustiques vecteurs et la prévalence de la maladie dans la ville de Bamako et ses environs.

Matériel et méthodes - Nous avons entrepris une étude transversale à passage unique pour les enquêtes parasitologiques, et à trois passages pour les enquêtes entomologiques. La zone d'étude couvrait l'ensemble du district de Bamako qui a été subdivisé en trente zones (200m X 200m) par des images de satellite (SPOT-5) obtenues en décembre 2009. La taille de la population d'étude était de 70 volontaires répartis entre 50 adultes (≥ 15 ans) et 20 enfants (6 mois à 14 ans), soit au total 2100 sujets pour les 30 zones. La capture des moustiques (*Culicidae*) par la technique de spray catch a concerné dix concessions choisies au hasard par zone, alors que la capture sur appât humain a porté sur trois zones choisies au hasard. La recherche des antigènes sporozoïtiques a été faite par ELISA.

Résultats- Discussion - *Plasmodium falciparum* et *P. malariae* étaient les espèces rencontrées au cours de l'étude. Les prévalences étaient respectivement de 8,3% (190/2294) et 0,4% (9/2294). L'infection à *P. falciparum* a été diagnostiquée dans 25 zones sur 30. Cinq genres de moustiques ont été identifiés au cours de l'étude: *Anopheles sp.*, *Culex sp.*, *Aedes sp.*, *Mansonia sp.* Les culex en représentaient plus de 97,1%, les anophèles 2,5% et les deux autres moins de 1%. En revanche, la fréquence de *Culex* ($>90\%$) était significativement plus élevée dans les CIII et CIV et plus faible en CI ($p < 10^{-4}$). Le taux d'agressivité moyen des *Anopheles sl* était de 2,36 piqûres/homme/nuit (variant de 0,08 dans la zone 0 à 5,83 dans la zone 10). Le taux d'agressivité moyen des *Culex* était de 142,25 piqûres/homme/nuit.

Conclusion – Les résultats de notre étude montrent une grande hétérogénéité spatiale et temporelle de l'agressivité qui ne variait pas dans le même sens que les paramètres de la transmission. Toutefois, il existerait des foyers autochtones de transmission du paludisme dans le district très focalisés.

Mots clés : Paludisme, *Anopheles*, *Culex*, Prévalence, Fréquence, Agressivité, Bamako, Mali.

SUMMARY

Introduction – The progress related to the control of malaria, the disease always continues to be a serious threat for the population in endemic areas. In Bamako, according to the recrudescence of malaria epidemics and the high morbidity and mortality rates, malaria becomes a major public health emergent problem. The objective of this study was to assess malaria transmission risk through the description of mosquito vectors population and the prevalence of disease in Bamako and its neighbourh.

Materials and methods – We carried out cross sectional study with one passage for parasitological surveys and three rounds for entomological surveys. The study covered all the district of Bamako which was divided into thirty (30) blocks of (200m X 200m) using satellite images (SPOT-5) obtained in December 2009. The sample size of the study population was 70 volunteers including 50 adults (≥ 15 years) and 20 children (6 months to 14 years), that means a total of 2100 subjects for the 30 blocks. Mosquitoes (*Culicidae*) were collected using the spray catch technique in ten households randomly selected per block, whereas the Human catch were performed inside three randomly selected blocks. The sporozoite antigen search was done by ELISA.

Results - Discussion – We recorded two species of parasites, *Plasmodium falciparum* and *P. malariae*. The prevalence rates were 8.3% (190/2294) and 0.4% (9/2294) respectively. We diagnosed *P. falciparum* infection in 25 blocks of the 30 blocks that means a coverage rate of 85%. Blocks 4, 11, 17, 25 and 28. Four genera of mosquito were identified: *Anopheles* sp., *Culex* sp., *Aedes* sp., *Mansonia* sp. The *Culex s.p* represented 97,1%, the *Anopheles* 2,5% and less than 1% for the two over parasites. On the other hand, the frequency of *Culex s.p* ($>90\%$) was significantly higher inside CIII and CIV and lower inside CI ($p < 10^{-4}$). The *Anopheles sl* mean aggressiveness rate was 2.36 bits/man/night (varying from 0.08 inside the block 0 to 5.83 in the block 10). The mean aggressiveness rate of *Culex s.p* was 142.25 bits/man/night.

Conclusion – The results of our study show a great spatial and temporal heterogeneity of aggressiveness which didn't vary with the entomological parameters of transmission. However, we assume that there are some malaria autochthonous transmission foci very focalized in Bamako.

Keys words: Malaria, *Anopheles*, *Culex*, Prevalence, Frequency, Aggressiveness, Bamako, Mali.

1

Introduction

1. INTRODUCTION

Le paludisme est causé par des parasites du genre *Plasmodium* et transmis par des moustiques femelles appartenant au genre *Anopheles*. Quatre espèces différentes sont particulièrement inféodées à l'Homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. Parmi celles-ci, *P. falciparum* et *P. vivax* sont plus fréquentes, tandis que *P. falciparum* est la plus dangereuse. *P. knowlesi* et *P. cynomolgi* sont des espèces zoonotiques qui peuvent également infester l'Homme [1]. Quoique parfaitement évitable et traitable, le paludisme continue d'hypothéquer la santé et les moyens de subsistance des populations à travers le monde, notamment en Afrique subsaharienne. Selon les dernières estimations, la transmission du paludisme est active dans de nombreuses régions de l'OMS, et environ, 198 millions de cas et 584 000 décès associés y ont été recensés en 2013 [2]. De 2000 à 2012, la forte intensification des interventions de lutte antipaludique a contribué à faire reculer de 42 % les taux de mortalité imputable au paludisme au niveau mondial, sauvant 3,3 millions de vies selon les estimations. Dans la Région africaine de l'OMS, ce taux a baissé de 54 % chez les enfants de moins de 5 ans. Dans la même période, l'incidence mondiale du paludisme a reculé de 25 % [2]. Toutefois, malgré ces progrès, la maladie reste endémique dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales. La maladie sévit particulièrement dans la zone Afrique de l'OMS qui enregistre 90% des décès dont 78% sont les enfants de moins de 5 ans.

Au Mali, le paludisme est responsable de 42% des motifs de consultation dans les services de santé [3]. Cependant, la transmission de la maladie varie selon les strates éco-épidémiologiques. Cinq faciès épidémiologiques de transmission du paludisme ont été décrits au Mali avec la présence de 4 espèces plasmodiales (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* et *P. ovale*) [4].

Comme partout ailleurs dans le monde, la population urbaine croît rapidement et les estimations prévoient que plus de 70% de la population mondiale et plus de 60% de la population africaine vivront dans les villes d'ici l'an 2050 [5]. En milieu urbain, la transmission du paludisme a été rapportée à des niveaux en général plus bas que dans les zones périurbaines et rurales [6, 7]. L'importance de la population à risque devrait faire des villes une zone prioritaire dans le cadre de l'étude et de la lutte contre la maladie. La transmission du paludisme y est loin d'être homogène, et elle peut être même très focalisée [8].

Le paludisme urbain se caractérise fondamentalement par une transmission plus faible, plus hétérogène avec un risque d'impaludation associé aux déplacements, à l'accès aux soins facile et au développement de formes graves chez une population non immune [9]. La transmission plus faible est le résultat de la pression foncière avec son corollaire de pollution domestique détruisant les gîtes d'anophèles. Il s'en suit une baisse de l'anophélisme, de la parasitémie et du degré d'exposition. Ce point de vue est corroboré par la comparaison de la prévalence moyenne du parasite en milieu urbain et rural (Afrique de l'Est) selon les travaux de JA Omumbo and *al*, 2005 [10]. Les zones à forte transmission en milieu urbain sont les quartiers d'urbanisation à faible densité de population, les zones directement riveraines des espaces à vocation maraîchère, les zones industrielles et leur périphérie immédiate [11]. A Dakar, l'association des données environnementales et les données entomologiques a permis de générer une carte de risque de transmission du paludisme. Après quantification de l'évolution du risque, les résultats ont montré l'impact positif de l'urbanisation sur la transmission par la diminution du risque au fur et à mesure que l'urbanisation progresse. La population exposée à un risque élevé est passée de 32% à 20% alors que celle exposée à un faible risque a augmenté de 29 to 41% [12]. Toutefois, d'autres études montrent plutôt que une certaine recrudescence du paludisme à cause d'une forme d'adaptation du vecteur au milieu urbain habituellement inapproprié. Le vecteur changerait donc ses habitudes pour se rapprocher davantage de son hôte [13]. L'hétérogénéité et le faible niveau de la transmission anophélienne en zone urbaine comparés à ceux de la zone rurale seraient due à la faible mobilité des anophèles en milieu urbain où le rayon de vol est limité, la densité des anophèles est faible ainsi que le taux d'inoculation du parasite. La transmission du paludisme est hétérogène car elle localisée et focalisée aux bidonvilles pauvres des villes alors qu'elle est plus faible au fur et à mesure que l'urbanisation est ancienne [14]. Le risque d'impaludation serait lié à certains facteurs favorisant comme les déplacements des populations (exode rural, développement des axes routiers, le développement du transport aérien). Le paludisme urbain se caractérise aussi par la fréquence élevée des formes cliniques graves à tous les âges à cause du retard dans l'acquisition d'une immunité, d'où le risque élevé des [15]. En somme, l'urbanisation est un phénomène qui prend de plus en plus de l'ampleur. Celle-ci engendre deux effets fondamentaux antagonistes sur le plan de la transmission du paludisme: la diminution de l'incidence et l'augmentation des formes graves. L'adaptation des anophèles à des habitats urbains, le développement de l'agriculture urbaine qui recrée des habitats larvaires compliquent le contrôle du paludisme. La transmission urbaine chez des sujets non

prémunis peut constituer un problème émergent majeur de santé publique dans les années à venir « Le paludisme urbain, c'est comme le dit Baudron, le paludisme de demain» [16].

A l'échelle d'une ville, les facteurs environnementaux (présence d'eau de surface ou de la végétation) et anthropiques tels la présence des champs de mil dans les concessions rurales situées à l'intérieur de la ville, et surtout l'urbanisation peuvent déterminer la répartition spatiale et temporelle de la transmission du paludisme d'où l'intérêt de la présente étude. L'association des données de télédétection (images satellitaires), d'entomologie et de parasitologie, permet de cartographier le risque de transmission du paludisme à l'échelle d'une zone bien déterminée. Dans les conditions où la répartition spatiale du risque de transmission du paludisme est connue, la lutte contre la maladie peut être focalisée en certains lieux afin d'optimiser l'efficacité des méthodes de contrôle et de réduire leurs coûts. Par cette démarche, l'étude de la variation spatiale et temporelle des populations de *Culicidae* et de la transmission du paludisme pourrait contribuer à mieux lutter contre le paludisme. Notre travail qui s'inscrivait dans le cadre général du concept de contrôle d'élimination, voire d'éradication du paludisme de l'OMS, faisait partie d'une étude plus large entreprise dans le district de Bamako visant à cartographier le risque de transmission du paludisme par l'association des données entomologiques, parasitologiques et environnementales.

Questions de recherche

- Existe-t-il une hétérogénéité de la nuisance culicidienne selon la période de l'année et entre les zones dans le district de Bamako?
- Le niveau d'agressivité anophélienne reflète-t-il celui de la transmission du paludisme dans le district de Bamako?

Hypothèses de recherche

- Il existe une hétérogénéité de l'agressivité culicidienne et de l'infection palustre en rapport avec la période de l'année et entre les zones dans le district de Bamako.
- L'intensité de l'agressivité anophélienne est proportionnelle au niveau de transmission du paludisme dans le district de Bamako.

2

Objectifs

2. OBJECTIFS

2. 1. Objectif général

Etudier la distribution des *Culicidae*, et la transmission du paludisme dans le district de Bamako.

2. 2. Objectifs spécifiques

- Décrire la composition et la distribution de la faune culicidienne dans le district de Bamako ;
- Déterminer les variations spatiale de l'agressivité des *Culicidae* dans le district de Bamako;
- Déterminer le taux d'inoculation entomologique (TIE) d'*Anopheles gambiae s.l* dans le district de Bamako. ;
- Calculer la prévalence du paludisme dans le district de Bamako.

2. 3. Contexte de l'étude

L'étude dont les résultats sont présentés ici est une composante d'une vaste étude visant à évaluer et prédire les niveaux d'exposition à la transmission en différents lieux et à différentes périodes. Dans ce contexte, le Département d'Infectiologie de Terrain de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA - Marseille, France), associé au Laboratoire d'Aérologie de l'Observatoire Midi-Pyrénées (LA/OMP - Toulouse, France), au Centre National d'Etudes Spatiales (CNES - Toulouse, France) et à l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD - Dakar, Sénégal), ont développé une méthodologie pour cartographier le risque de transmission du paludisme urbain en région soudano-sahélienne à partir de données entomologiques et de télédétection (images provenant de satellites d'observation de la terre à haute résolution) recueillies à Dakar, Sénégal. Pour pouvoir développer cette cartographie du risque à un niveau opérationnel, les modèles doivent impérativement être validés dans d'autres villes. Pour des raisons bioécologiques, il a été décidé de mener les travaux de validation de terrain (évaluation entomologique et immuno-parasito-clinique de la transmission du paludisme) à Bamako (Mali) et à Ndjamen (Tchad). Les données recueillies sur le terrain seront comparées à celles prédites par les modèles développés par l'IRBA à partir de données de télédétection obtenues à Bamako et à Ndjamen grâce à une collaboration avec le CNES et le Malaria Research and Training Center (MRTC) de l'université de Bamako. La validité des prédictions des modèles pourra ainsi être vérifiée. Ces données permettront aussi d'adapter et d'améliorer les modèles. Les résultats que nous

présentons dans ce document contribuent donc à l'évaluation du risque de transmission en l'associant aux autres données ci-dessus énumérées.

3

Généralités

3. GENERALITES SUR LES *CULICIDAE*

3.1. Systématique des *Culicidae*

Tous les *Plasmodium* de primates, dont les 4 espèces parasites de l'homme sont transmises par des moustiques du genre *Anopheles* (étymologiquement, du grec " a " privatif et "Opheles " utile, autrement dit insecte dénué d'utilité). Les anophèles appartiennent au phylum des Arthropodes, à la classe des Insectes, à l'ordre des Diptères, au sous-ordre des Nématocères, à la famille des *Culicidae* à la sous-famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles* [17]. Le genre *Anopheles* comprend environ 400 espèces dont une soixantaine seulement est vectrice de *Plasmodium* dans les conditions naturelles. Vingt espèces sont à l'origine de la plupart des cas humains [17].

Les moustiques appartiennent au règne Animal, au sous-règne des Métazoaires ou animaux formés de plusieurs cellules, à l'Embranchement des Arthropodes et à la classe des *Insectes*. Ces Insectes de la sous-classe des Ptérygotes, à métamorphose complète, et de l'ordre des Diptères sont caractérisés par deux paires d'ailes dont la deuxième est transformée en haltère [18, 19, 20] . Les moustiques appartiennent au sous-ordre des Nématocères, à la famille des *Culicidae* (**Figure 1**). Ils se distinguent des autres Nématocères piqueurs par leur trompe longue et la présence d'écailles sur les nervures des ailes [21, 22].

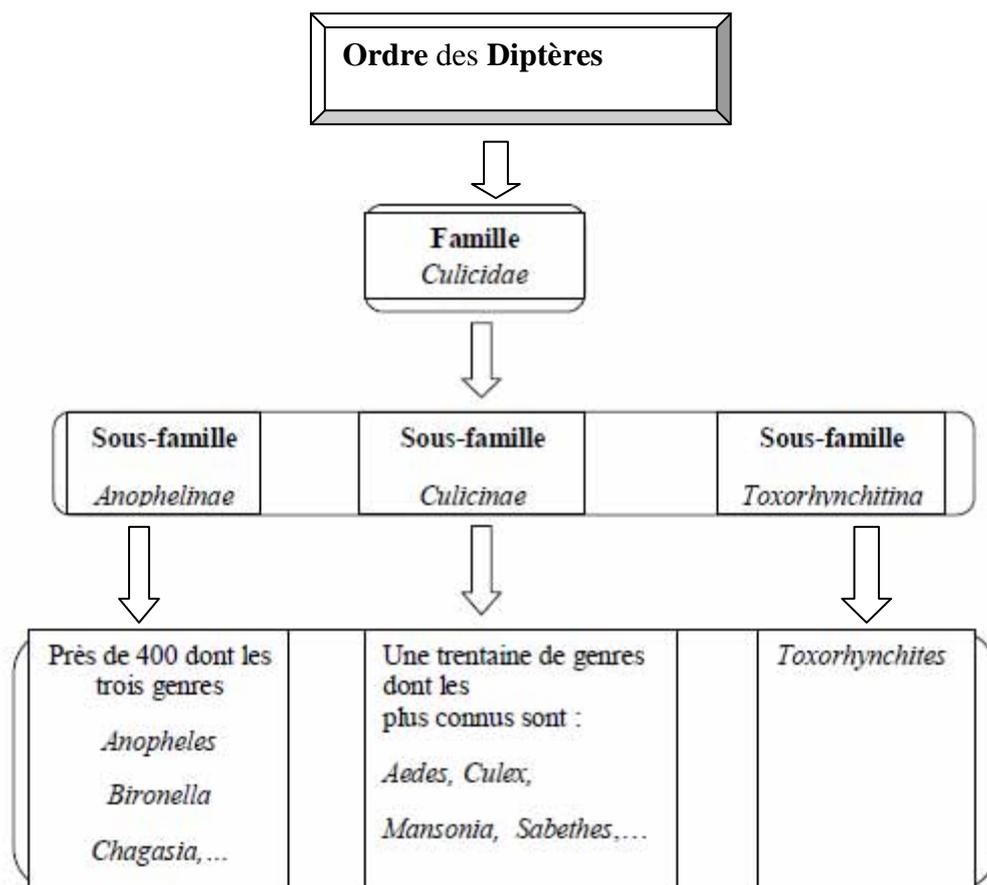


Figure 1: Systématique des *Culicidae* [21, 22].

3. 2. Bio-écologie des *Culicidae*

3. 2. 1. Comportement des moustiques

Les femelles de ces espèces se nourrissent essentiellement de sang (à l'exception des *Toxorhynchites*) principalement pour assurer la maturation des œufs. En général, chaque prise de repas sanguin est suivie d'une ponte dans les 2 à 3 jours. Le cycle gonotrophique appelé aussi gonotrophique est la succession des phénomènes physiologiques qui se produisent chez le moustique entre deux repas de sang successifs [23]. Chaque cycle gonotrophique comprend trois phases principales:

- la recherche d'un hôte et la prise d'un repas sanguin;
- la digestion sanguine et le développement des ovaires;
- la recherche d'un gîte favorable à l'oviposition.

La durée du cycle gonotrophique n'est constante que sous les tropiques ou dans les climats chauds où la température et les autres éléments météorologiques varient dans un intervalle

relativement étroit [24]. Pour la plupart des espèces tropicales, et notamment *Anopheles gambiae* s.l. et *An. funestus* en Afrique, elle est de 4 à 5 jours pour le premier cycle et de 2 à 3 jours pour les cycles suivants [17].

Après chaque ponte le moustique retrouvera un nouvel hôte, soit le jour même (cycle de 2 jours), soit le lendemain (cycle de 3 jours). Il peut y avoir dissociation gonotrophique au début de la vie imaginale (2 repas sanguins nécessaires avant la première ponte) ou durant des saisons moins favorables à la reproduction (saison sèche, hiver). Les femelles sont attirées par différents stimuli dégagés par l'hôte: CO_2 , sueur. La taille de l'hôte joue également un rôle. Ainsi, on a observé que les anophèles piquaient trois fois moins un enfant qu'un adulte [25]. Les préférences trophiques varient suivant les espèces de moustiques et la disponibilité d'hôtes. Les moustiques zoophiles se nourrissent exclusivement sur des animaux et les moustiques anthropophiles se nourrissant sur homme, mais pas exclusivement. Les zoo-anthropophiles peuvent se nourrir à la fois sur l'homme comme sur les animaux. Suivant le lieu de la prise du repas sanguin, on peut distinguer des moustiques endophages (piquant à l'intérieur des habitations) et des moustiques exophages (piquant à l'extérieur des habitations). L'étude du comportement trophique permet d'estimer le contact homme-vecteur. La prise d'un repas sanguin est suivie de la digestion dans un lieu de repos. Suivant le lieu de repos on distingue des moustiques endophiles, ceux qui une fois gorgés restent à l'intérieur des habitations (faune résiduelle), et des moustiques exophiles ceux qui se reposent à l'extérieur des habitations. On tiendra compte du comportement au repos des moustiques adultes lors de la planification d'un programme de lutte anti-vectorielle (moustiques endophiles: pulvérisations intra-domiciliaires; moustique exophiles: pulvérisations à l'extérieur). Ces comportements peuvent être déterminés génétiquement, du moins partiellement, au sein d'une même espèce ou même au sein d'une population d'espèce. Le type d'habitation module le comportement au repos et le degré d'anthropophilie est modulé par la présence d'hôtes alternatifs [25]. La figure 2 résume le schéma du cycle gonotrophique du moustique et les méthodes de lutte qui en découlent [25].

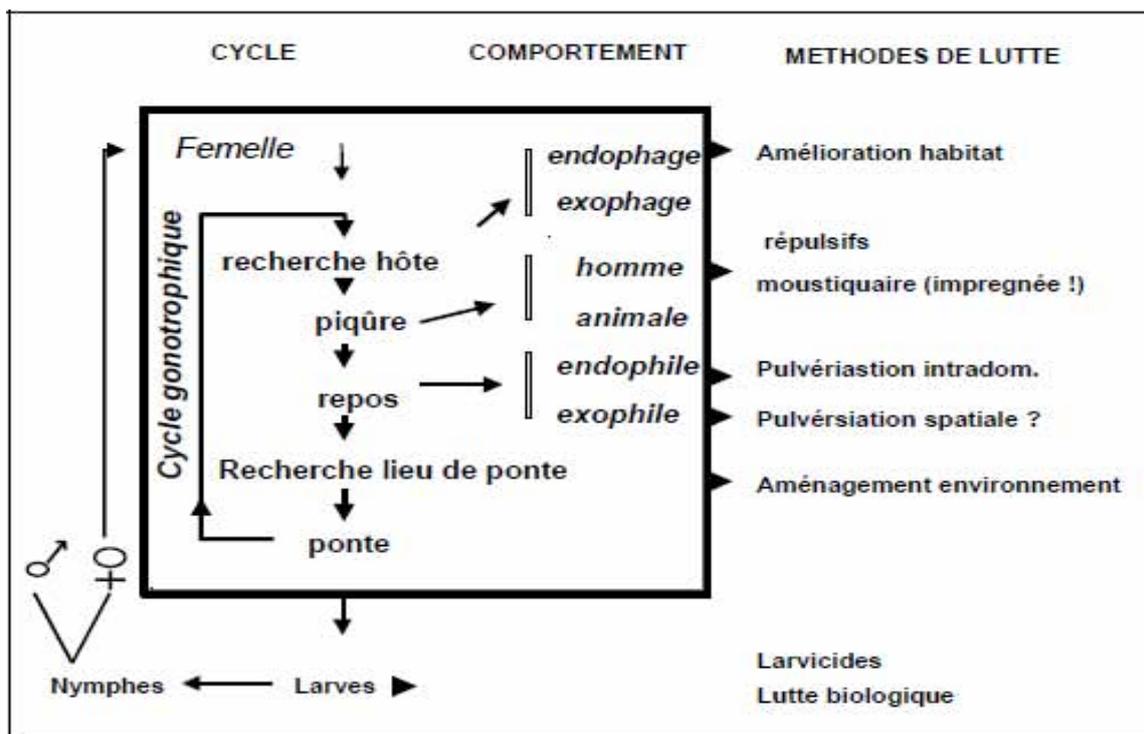


Figure 2: Cycle gonotrophique, comportement des adultes et méthodes de lutte associées aux différents stades de développement du moustique [25].

3. 2. 2. Conditions de développements du moustique [25]

Divers facteurs écologiques plus ou moins interdépendants influençant l'oviposition et le développement larvaire qui varie suivant les espèces:

- **Végétation:** selon les espèces l'association avec une certaine formation végétale est plus ou moins importante: plantes dressées, végétation flottante, algues ou végétation réduite, voir absente.
- **Faune prédatrice:** elles peuvent limiter la densité larvaire. Parmi les prédateurs on aura les poissons (*Gambusia*, *Poecilia* ou guppy), reptiles et amphibiens, insectes (Dytiques, Notonectes, larves prédatrices d'Odonates, *Chaoboridae*, *Culex tigripes*, etc.). Les parasites sont également nombreux: des Nématodes mermitidés, des champignons (*Coelomyces*), des protozoaires (*Microsporidies*).
- **Turbulence de l'eau:** les larves culicidiennes ont une préférence pour les eaux calmes. L'agitation par le vent, par l'homme ou les animaux peut avoir une action destructrice sur la population larvaire.
- **Ensoleillement et ombre:** Certaines espèces des moustiques préfèrent se développer dans de l'eau fortement ensoleillée; alors que d'autres préfèrent dans de l'eau ombragée.

-Température: Les *Anophelinae* sont généralement moins tolérants à des faibles températures que les *Culicinae*. La température influence positivement la vitesse de développement larvaire. Cependant des températures trop élevées entraînent une mortalité larvaire avant la nymphose.

-Teneur de suspension en surface: Peut jouer sur le développement larvaire des moustiques.

- **Potentiel d'hydrogène (pH) :** La plupart des espèces ont une tolérance assez large.

- **Salinité:** Ce facteur est plus important que l'acidité de l'eau. On peut classer les espèces d'anophèles en 2 catégories:

i) Espèces d'eaux saumâtres (en Afrique de l'Ouest: *An. melas*, en Afrique de l'Est: *An. merus*, en Asie du Sud-Est: *An. sudaicus*)

ii) Espèces d'eaux douces (faible salinité requise chez *An. funestus*).

- **Pollution:** Les eaux polluées (égouts, déchets organiques ou industriels) ne conviennent généralement pas au développement larvaire (teneur en oxygène souvent trop faible, impact sur la végétation), mais certaines larves d'*Anopheles* parviennent à s'adapter.

- **Éléments nutritifs:** Ils seront largement dépendants de la végétation. Les larves se nourrissent de micro-organismes: algues unicellulaires, flagellés, ciliés.

Les stades immatures jouent un rôle capital dans la régulation de la population adulte. Les fluctuations des populations adultes selon la pluviométrie sont davantage le résultat des chances de survie des œufs, des larves et des nymphes que les chances de survie des adultes.

3. 2. 3. Cycle biologique de l'anophèle [25]

Ce cycle est fondamentalement similaire pour tous les moustiques, en dépit des variations éthologiques observées selon les espèces et les conditions écologiques. Le cycle est composé de deux principales phases :

- une phase aérienne partant de l'émergence du moustique jusqu'à la ponte du moustique en passant par le repos, la prise de jus, l'accouplement, la recherche du sang, le repos, la maturation des œufs, la recherche du lieu de ponte.

- une phase aquatique qui débute par l'œuf flottant jusqu'à la nymphe en passant par la larve stade I, II, III et IV.

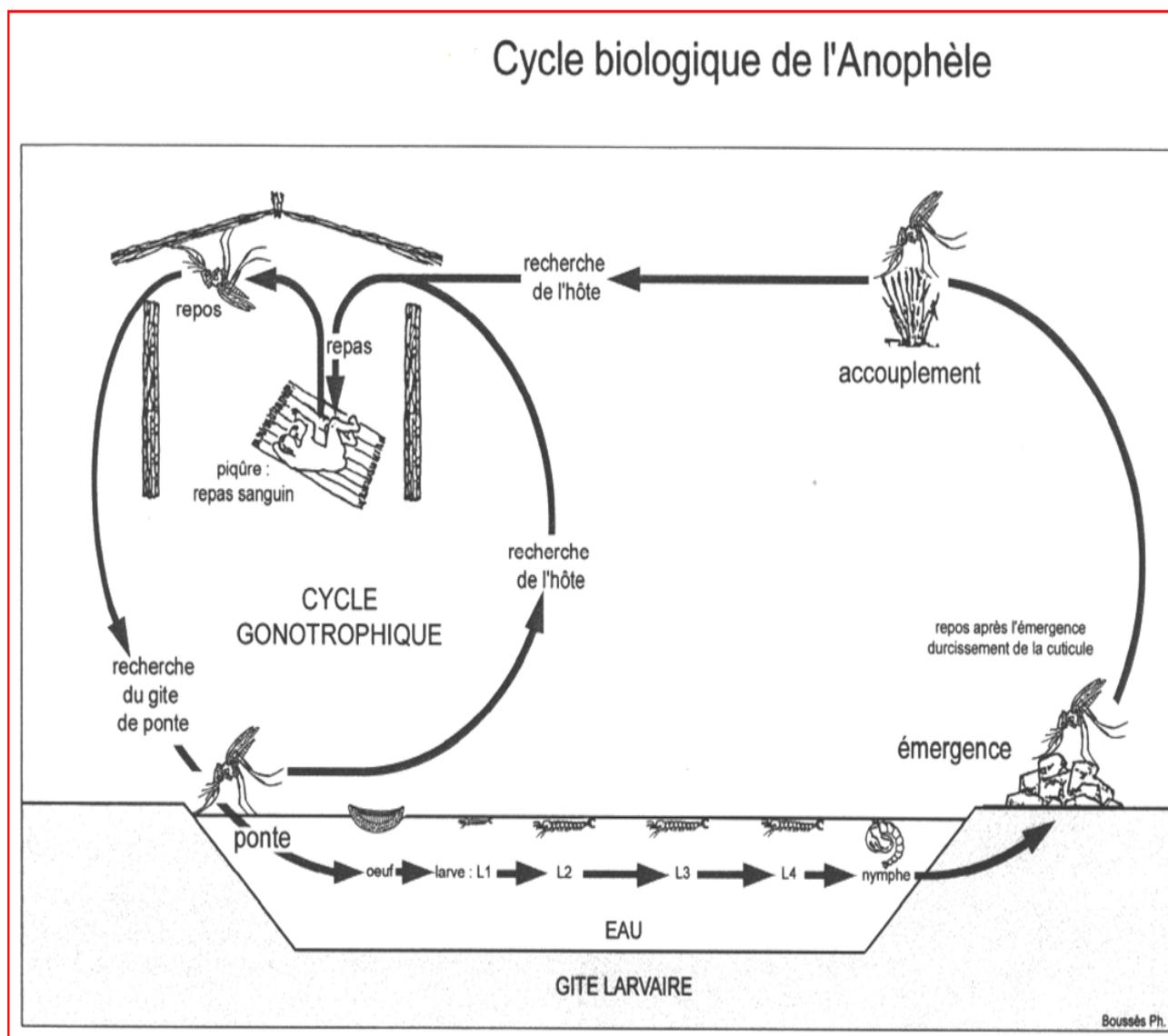


Figure 3: Cycle de développement des moustiques (Mouchet et Carnevale, 1991) [25]

3. 2. 4. Identification morphologique des *Culicidae* [25]

Certaines caractéristiques de l'adulte, des pupes, des larves et des œufs peuvent être utilisées comme clés pour identifier de façon morphologique les différentes espèces du moustique (Figure 3).

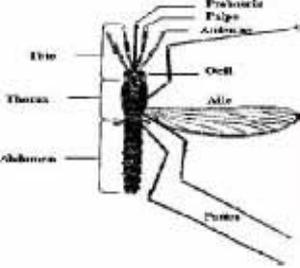
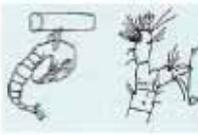
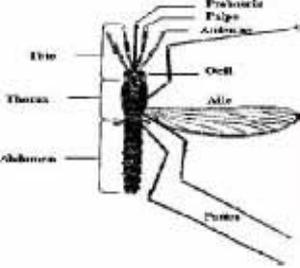
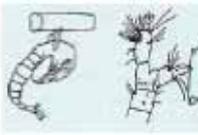
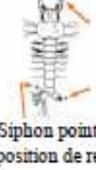
Genres	Caractéristiques des adultes	Caractéristiques des pupes	Caractéristiques des larves	Caractéristiques des oeufs
<i>Aedes</i>	 au repos		 Siphon respiratoire court et trapu, oblique par rapport à la surface de l'eau	 Pondus isolément, Absence de flotteurs
<i>Culex</i>	Parallèle au support 		 Siphon allongé et fin, position de respiration oblique	 Agglomérés en nacelles : 200 à 400 oeufs
<i>Mansonia</i>		 Présence de deux cornes respiratoires	 Siphon pointu avec des dents, position de respiration oblique	 Présence de flotteurs
<i>Anophèles</i>	 au repos Oblique par rapport au support		 Absence de siphon respiratoire, horizontale par rapport à la surface de l'eau	 Pondus isolément. Pourvus de flotteurs : 150 à 300 par ponte

Figure 4: Critères de reconnaissance morphologique de différentes espèces de *Culicidae* [25].

3. 2. 5. Cycle biologique du *Plasmodium* (Figure 5) [26]

3. 2. 5. 1. Cycle chez l'homme :

- Cycle exo-érythrocytaire

Au cours d'une pique chez l'homme, l'anophèle femelle infeste injecte avec sa salive dans un vaisseau sanguin, des sporozoïtes (éléments fusiformes de 8 à 12 μm de diamètre) localisés dans ses glandes salivaires. Ces sporozoïtes se répartissent rapidement dans tout l'organisme, pénétrant activement et indifféremment dans différents types cellulaires. Ils atteignent le foie en une demi-heure et pénètrent dans un hépatocyte: c'est le début d'une crise pré-érythrocytaire hépatique qui va durer 6 jours pour *P. falciparum*, 8 jours pour *P. vivax*, 9 jours pour *P. ovale* et probablement 12 jours pour *P. malariae*. Seuls les sporozoïtes ayant gagné le foie et franchi une dernière barrière constituée par les cellules de Kupffer, poursuivent leur cycle : c'est la schizogonie tissulaire ou cycle exo-érythrocytaire. Le sporozoïte pénètre dans l'hépatocyte et se transforme en trophozoïte, puis en schizonte. A la maturité, le schizonte hépatique encore appelé corps bleu, s'éclate, libère des mérozoïtes: formes uni-nucléées qui initieront la phase érythrocytaire.

- Cycle érythrocytaire

Le mérozoïte de provenance tissulaire pénètre dans l'hématie par endocytose et s'y transforme en trophozoïte jeune. Aux dépens de l'hémoglobine dont il se nourrit, le trophozoïte élabore des grains de pigment noir : l'hémozoïne, résidu voisin de l'hématine. Parvenu à maturité il se transforme en schizonte composé d'un certain nombre de mérozoïtes qui se disposent en une forme régulière appelée "corps en rosace", avec le pigment rassemble au centre du schizonte. Le corps en rosace mur se dilate puis s'éclate, libère le pigment et les mérozoïtes qui vont parasiter d'autres hématies. L'éclatement quasi simultané des corps en rosace appartenant à la même génération qui provoque l'accès fébrile observé au cours du paludisme. Cet accès fébrile peut être de type :

Tierce : toutes les 48 h, pour *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*.

Quarte : toutes les 72 h, pour *P. malariae*.

Certains trophozoïtes installés dans les hématies vont subir une évolution particulière. Leur développement va aboutir à la formation de gamétocytes mâles et femelles. Ces gamétocytes dépourvus de tout pouvoir pathogène ne peuvent plus évoluer chez l'homme, ils constituent les éléments sexués qui une fois ingérés par l'anophèle poursuivent leur développement pour devenir des sporozoïtes [27].

3. 2. 5. 2. Cycle chez l'anophèle (cycle sporogonique)

En prenant un repas de sang sur un sujet infesté, l'anophèle femelle absorbe les différents stades du parasite. Les éléments asexués : trophozoïtes et schizontes sont digérés. Seuls les gamétocytes poursuivent leur développement. Le gamétocyte mâle, parvenu dans l'estomac du moustique, libère 4 à 8 éléments minces, allongés, flexueux, mobiles : c'est le phénomène de l'exflagellation. Ces éléments sont appelés microgamètes. Quant aux gamétocytes femelles, ils subissent une maturation et deviennent des gamètes femelles ou macro gamètes. L'un des microgamètes pénètre dans le microgamète ; les deux noyaux fusionnent, il y a fécondation et formation d'un œuf mobile appelé ookinète. Cet ookinète, grâce à sa mobilité va s'enfoncer dans la paroi de l'estomac du moustique pour finalement s'immobiliser entre l'épithélium et la couche musculaire. Il devient un oocyste qui va grossir pour atteindre et même dépasser 60 µm de diamètre. Le noyau de l'oocyste se divise plusieurs fois, les divisions cytoplasmiques suivent. Il se forme ainsi à l'intérieur de l'oocyste des milliers d'éléments, qui d'abord arrondis,

vont devenir fusiformes, allongés: les sporozoïtes. Parvenu à maturité, l'oocyste éclate et libère les sporozoïtes qui vont envahir les glandes salivaires du moustique. L'anophèle devenu infectant infectera un nouvel individu lors d'un repas de sang. La durée du cycle sporogonique est en moyenne de 10 à 40 jours, en fonction de la température, de l'humidité de l'air, de l'espèce plasmodiale hébergée par l'anophèle. D'une façon générale *P. falciparum* et *P. vivax* évoluent plus rapidement que *P. ovale* et *P. malariae* surtout. Le cycle sporogonique n'est possible qu'au-dessus d'une certaine température: 17° C pour *P. vivax* et *P. malariae*.

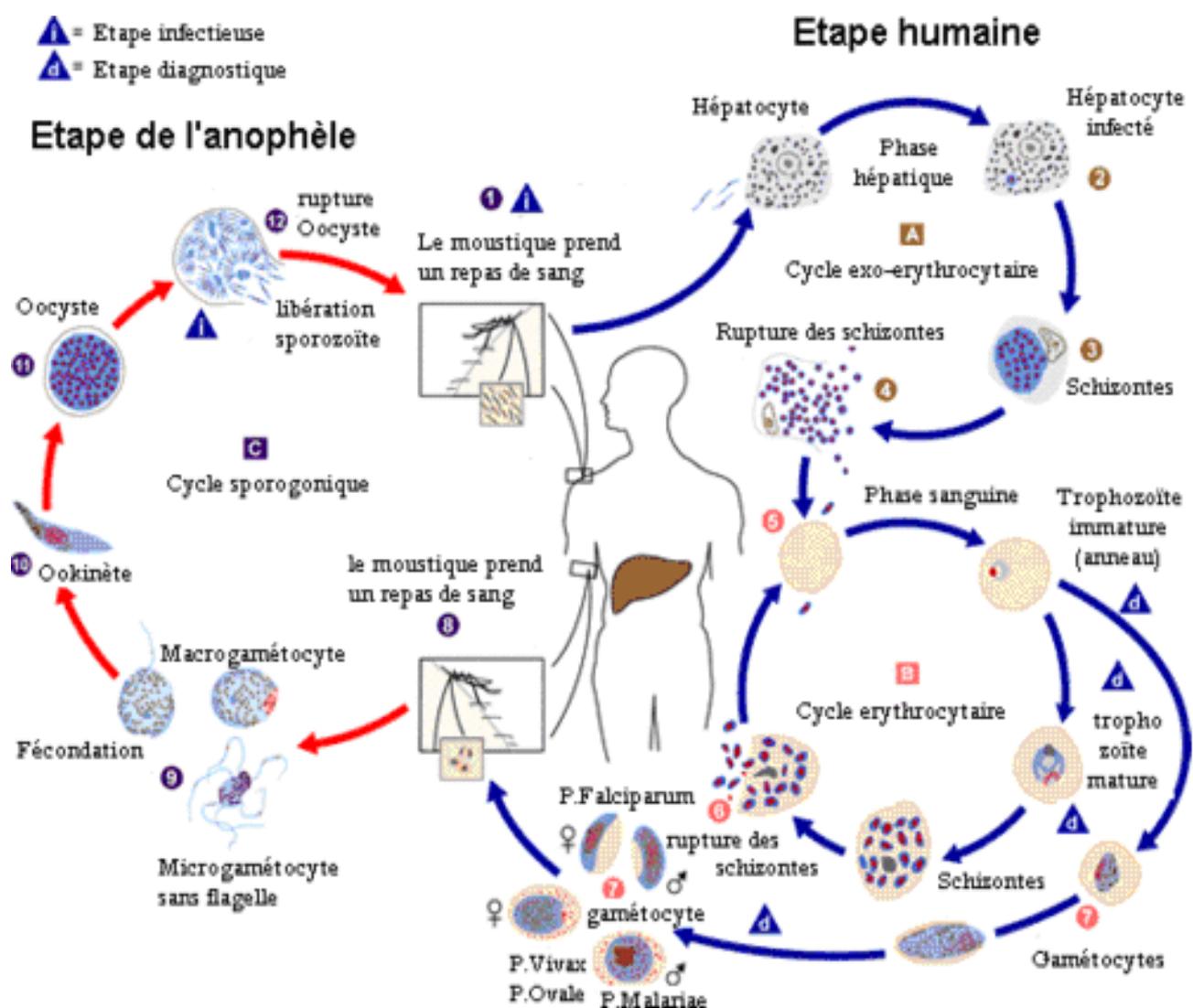


Figure 5: Cycle biologique du *Plasmodium* [26]

Source : http://www.cdc.gov/malaria/images/graphs/life_cycle/malaria_lifecycle.gif 09-01-2016

3. 3. Le paludisme

Le paludisme résulte de la présence et de la multiplication chez l'hôte humain des plasmodies appartenant à des espèces pouvant infecter *Homo sapiens*. Le parasite responsable du paludisme est un protozoaire appartenant au phylum des *Apicomplexa*, à la famille des *Plasmodiidae* et au genre *Plasmodium*. Il s'agit de *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium vivax*. Une cinquième espèce, parasite habituel du singe Macaque (*Macaca fascicularis* ou *M. nemestrina*), *Plasmodium knowlesi* a été incriminée dans les infections humaines en Malaisie [28]. Très récemment, une sixième espèce simienne, *Plasmodium cynomolgi* a été décrit chez un hôte humain en Malaisie [29]. Le paludisme à *P. falciparum* et *P. vivax* pose le plus grand défi de santé publique. *P. falciparum*, l'espèce la plus pathogène est plus fréquente sur le continent africain. *P. vivax* a une distribution géographique plus large que *P. falciparum* car elle est capable de se développer dans des anophèles vecteurs à de basses températures et survit à de hautes altitudes sous des climats plus froids. En outre, *P. vivax*, espèce capable de former des hypnozoïtes est plus fréquente hors d'Afrique que *P. falciparum*. En dépit de la découverte de son agent pathogène par Laveran en 1842 et de la mise en évidence du mode de transmission via les moustiques par Ross en 1882, le paludisme à *P. falciparum* reste encore une maladie endémique majeure qui exerce sur l'Homme, une charge morbide très importante comparée à celle des autres maladies parasitaires [2]. Globalement, 3,2 milliards de personnes sont à risque d'être infectées par le paludisme et susceptibles de développer la maladie, et 1,2 milliards sont à haut risque (>1 chance sur 1000 d'attraper par année) [2]. Selon les dernières estimations, 198 millions de cas et 584 000 décès associés sont enregistrés en 2013. La région africaine en paye le plus lourd tribut avec 90% des cas totaux enregistrés dont 78% chez les enfants de moins de cinq ans.

3. 3. 1. Répartition géographique du paludisme [30]

En Afrique -Le paludisme est largement répandu dans toute l'Afrique intertropicale et a Madagascar ; par contre il est rare en Afrique du Nord. Dans les régions de sud du Sahara les vecteurs prédominants sont *An. gambiae s.l* et *An. funestus*. Le complexe *An. gambiae s.l.* comprend sept espèces : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. merus*, *An. melas*, *An. quadriannulatus* (A et B) et *An. bwambae*. Ces espèces sont morphologiquement identiques, mais présentent des barrières de reproduction et des préférences écologiques distinctes [30].

En Amérique – Le paludisme est présent en Amérique Centrale, en Amérique du Sud ou il est en progression, en particulier au Brésil, dans les Guyanes et en Haïti. Par contre aux Antilles françaises et en Amérique du Nord, il est absent[30] .

En Asie - Le paludisme sévit intensément en Asie mineure, dans la péninsule indienne, en Birmanie, en Chine, en Thaïlande et au Vietnam [30].

En Océanie -Il est présent en Nouvelle Guinée, aux îles Salomon. Il est absent en Tahiti, en Nouvelle Calédonie et aux îles Loyauté. Les foyers du Nord-est de l'Australie ont disparu [30].

En Europe, le paludisme a été éradiqué et a disparu de ses anciens foyers, mais on observe le paludisme d'importation, surtout en France, qui est en pleine augmentation du fait de l'essor des déplacements vers les pays tropicaux [30].

Au Mali

Les principaux vecteurs sont *An. gambiae s.l* et *An. funestus* [31]. Les études menées par le même auteur en 1994 et 1998 [32, 33] ont montré qu'au Mali, *An. gambiae s.l* se compose d'*An. arabiensis* et de trois formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s* dénommées Bamako, Mopti et Savane. Avec l'avènement de la biologie moléculaire deux formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* par l'amplification de l'ADN ribosomal. La forme moléculaire M correspond à la forme chromosomique Mopti alors que la forme moléculaire S regroupe les formes chromosomiques Bamako et Savane [34, 35, 36].

Selon le rapport du Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP, 2015), 1 497 915 cas de paludisme ont été enregistrés du 1^{er} janvier au 30 septembre 2015 dont 267 décès au cours de la même période [37]. Comme dans beaucoup d'autres pays en Afrique au sud du Sahara, le système d'information sanitaire (SIS) sous-estime la mortalité liée au paludisme. Le SIS peut tout aussi surestimer la mortalité attribuée au paludisme en l'absence d'un diagnostic adéquat des cas de fièvre d'origine palustre. Selon le Programme National de Lutte contre le Paludisme du Mali (DNS, 2014) [38], le système d'information de routine a rapporté pour l'année 2012, 1 181 127 cas de paludisme clinique présomptif et 1069 décès à l'échelle

nationale. En plus des limites structurelles de sous notification de ce système, à partir de la 13ème semaine la crise militaire a exclu les informations des régions du nord du Mali.

4

Matériel et Méthodes

IV. MATERIEL ET METHODES

4. 1. Zone d'étude

Le site de notre étude est la ville de Bamako, capitale du Mali. Située à cheval sur le fleuve Niger, la ville est aussi traversée par de nombreuses rivières temporaires (affluents du Niger). La ville de Bamako a la forme d'une cuvette entourée de collines. Elle s'étend d'Ouest en Est sur 22 km et du nord au sud sur 12 km pour une superficie de 267 km². Le climat est de type soudanien avec deux saisons bien tranchées, la saison sèche (Novembre-Mai) et la saison pluvieuse (Juin-Octobre). La quantité totale de précipitation est de 878 millilitres (DNSI, 2009) [39]. La température moyenne annuelle est de 27,8° (T° minimales : 21,5°; T° maximales : 34,5°). Le district de Bamako compte six communes et plus d'une cinquantaine de quartiers. Il comptait 2 309 106 habitants en 2012, avec un taux d'accroissement de 4,8%. Cet accroissement rapide et incontrôlé de la ville de Bamako pose d'énormes problèmes d'hygiène, de santé, d'approvisionnement en eau potable et d'évacuation des excréta. . Dépourvue dans la plupart du temps de systèmes de canalisations, les eaux de pluie forment à travers la ville d'innombrables gîtes potentiels de moustiques susceptibles d'entretenir un foyer local de transmission du paludisme et d'autres maladies hydriques comme la schistosomose. Chaque commune dispose en fait de son centre de santé de référence, mais aussi des centres de santé communautaire. Le district de Bamako dispose en outre de quatre centres hospitaliers universitaires (CHU) : Gabriel Touré, Point G, le CNOS et l'Hôpital du Mali.

Grâce à l'étude et au traitement d'images satellitaires SPOT - 5 à 2,5m de résolution spatiale, acquise le 03/02/2009, trente (30) zones couvrant l'ensemble du district de Bamako ont été sélectionnées pour les enquêtes entomologiques et parasitologiques (**Figure 6**). Les trente zones ont été choisies de manière à prendre en compte les contrastes écologiques (végétation, présence du fleuve Niger et ses affluents, présence d'une chaîne de collines bordant la ville à l'Ouest, au Nord et au Sud) et anthropologique (urbanisation : bâtiments modernes au centre-ville et dans les quartiers résidentiels, maisons en banco dans certains quartiers périphériques et dans les anciens quartiers des communes I, II et III, et présence de décharges secondaires d'ordures en certains points de la ville). Dans les zones d'extension, la cour de nombreuses concessions en chantier constituent autant d'habitats favorables aux larves d'anophèles notamment dans la zone 10.

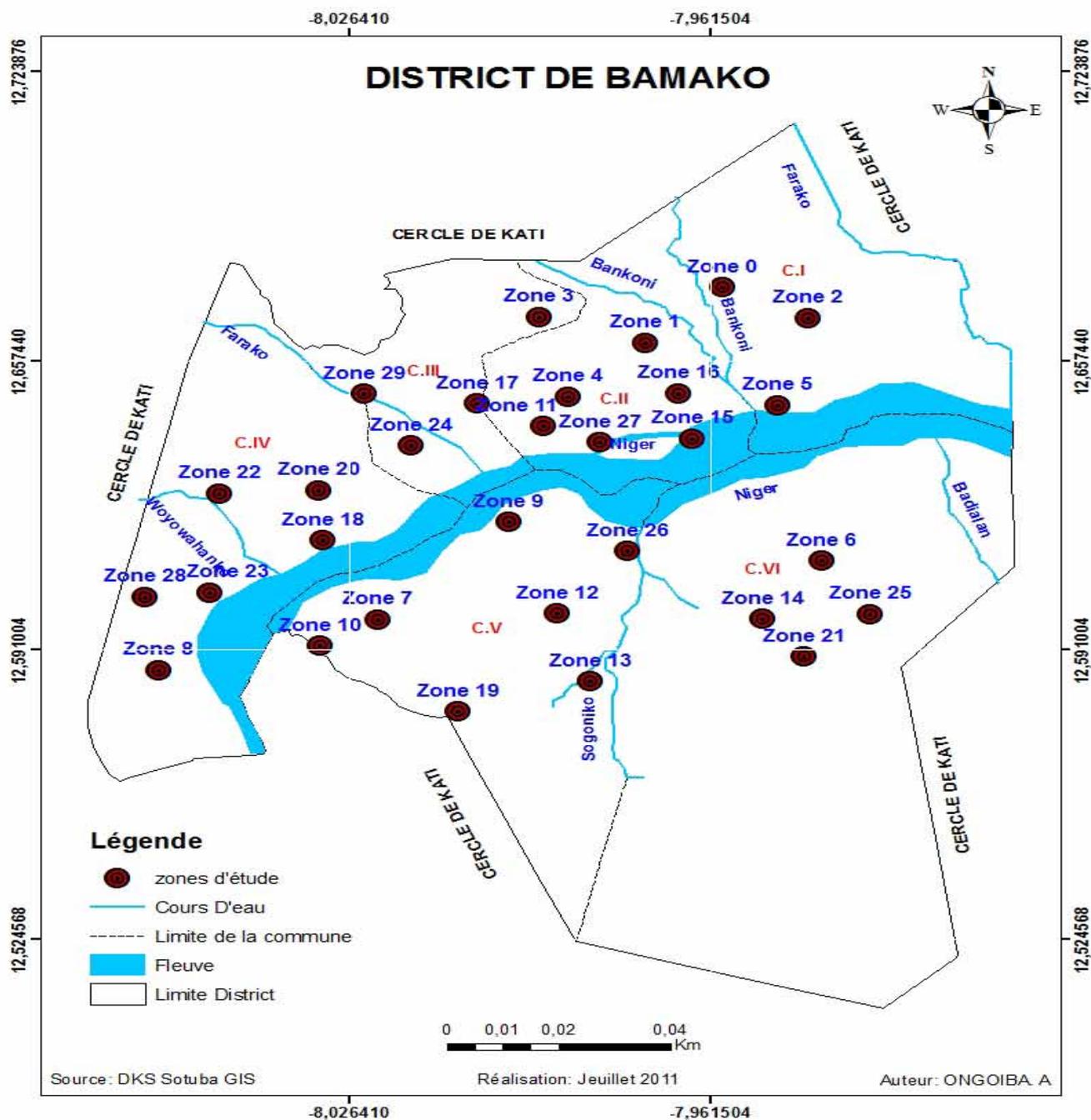


Figure 6 : Répartition des trente zones d'étude à travers le district de Bamako à partir des images satellitaires (source : MRTC GIS).

4. 2. Périodes d'étude

Les données entomologiques ont été collectées au cours de trois passages transversaux : octobre 2011, août et octobre 2012; Les enquêtes parasitologiques ont été réalisées au cours

d'un seul passage, fin novembre 2011-début décembre 2011 qui est la période de pic de la transmission du paludisme à Bamako.

4. 3. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude d'observation avec des passages transversaux.

4. 4. Populations d'étude

4. 4. 1. Population humaine

Elle était composée par les enfants âgés de 6 mois à 14 ans et par les adultes âgés de 15 ans et plus, vivant dans l'une des trente zones d'étude sélectionnées.

4. 4. 2. Population de moustiques

La population vectrice était composée par la faune anophélienne matinale et celle capturée la nuit en vue de déterminer la composition faunistique et différents paramètres entomologiques (agressivité et indice sporozoïtique).

En dehors des anophèles, les autres espèces de *Culicidae* rencontrées ont été aussi capturées pour l'estimation de l'agressivité.

4. 4. 3. Echantillonnage de la population humaine

Pour calculer le taux de prévalence du paludisme à l'échelle du district de Bamako, nous avons sélectionné au hasard par la technique d'échantillonnage par grappe d'Henderson (comme l'évaluation de la couverture vaccinale du PEV) 70 sujets par zone (50 adultes et 20 enfants). L'*indice plasmodique* étant plus faible chez les adultes [40], nous avons calculé la taille minimale d'échantillon à 50 et celle des enfants à 20, soit un total de 2100 sujets (70x30 zones). A cela, il faut ajouter 15% de perdus de vue, ce qui fait environ 90 sujets répartis entre 60 adultes et 30 enfants, soit au total 2700 sujets. Le risque alpha était de 5%, avec une précision de 10% autour du taux d'indice plasmodique à estimer. Nous avons pris un risque bêta de 20% pour pouvoir effectuer une comparaison interzone. La puissance de notre étude a été estimée à 80% (1-bêta).

4. 4. 4. Echantillonnage de la population culicidienne

L'échantillonnage de la population culicidienne a été effectué au moyen de collectes matinales de la faune résiduelle après pulvérisation de pyréthrine dans les habitations, et de captures nocturnes sur appât humain. Pour la capture des *Culicidae* par spray catch, cinq (05) concessions parmi 20 à 25 concessions par zone ont été sélectionnées au hasard dans chaque zone. Pour cela, nous avons sélectionné deux chambres par concession selon la disponibilité des occupants, soit au total dix chambres par zone. La capture des moustiques sur appât humain a été réalisée dans trois zones choisies au hasard en raison deux concessions (intérieur et extérieur de chaque chambre) par zone.

Le choix du nombre de concessions par zone et celui du nombre de zones pour la capture sur appât humain s'expliquaient par des raisons financières.

4. 5. Capture sur appât humain (Annexe 1)

Chaque passage nous effectuons trois nuits successives de captures.

Les trois zones ayant servi de lieu de capture sur appât humain ont été sélectionnées au hasard parmi celles qui étaient situées à proximité des points d'eau. Les captureurs qui étaient tous des hommes adultes donnèrent au préalable leur consentement éclairé pour leur participation volontaire à l'étude. Pour minimiser les risques de transmission du paludisme aux volontaires, ces derniers recevaient tous les 2 mois un traitement à base d'amodiaquine et de sulfadoxine pyriméthamine (AQ+SP) en raison de 10 mg /kg/par jour d'AQ pendant 3 jours et de 1 comprimé pour 20 kg en prise unique de SP. Cette stratégie selon certains auteurs permet de prévenir le paludisme [40]. A ce traitement préventif, les captureurs étaient en outre vaccinés contre la fièvre jaune.

4. 6. Récolte de la faune résiduelle (Spray catch)

Au niveau de chacune des trente zones d'étude, les moustiques ont été également récoltés le matin (07h-09h), une seule fois au cours de chacun des trois passages, après pulvérisation d'insecticides à l'intérieur des chambres à coucher selon l'échantillonnage décrit dans le chapitre « 4. 5. 1. Echantillonnage de la population culicidienne ». Avant la pulvérisation des chambres, les issues étaient bouchées et un drap était étalé sur le plancher, les lits et tables de manière à récolter les moustiques tués ou immobiles par l'insecticide (effet Knock - down) qu'on laisse agir 10 minutes (**Annexe 2**).

4. 7. Traitement du matériel récolté

Les moustiques récoltés étaient dénombrés et identifiés morphologiquement selon le genre et l'espèce [41]. Les têtes et thorax de femelles capturées sur appât humain étaient conservés puis analysés par la méthode ELISA-CSP pour la détection de l'antigène circumsporozoïtique.

4. 8. Détermination de l'infection plasmodiale

4. 8. 1. Recherche de l'antigène circumsporozoïtique par la méthode ELISA-CSP chez le vecteur (Annexe 3)

Les têtes et thorax des femelles d'anophèles ont été analysés par le test de l'ELISA pour la détection de l'antigène circumsporozoïtique selon la méthode de Bier [42]. Il s'agit de la méthode du « Sandwich » ; le test commence par la sensibilisation des plaques en polystyrène par la fixation des anticorps monoclonaux de capture spécifique sur la paroi des puits. Après incubation d'une nuit, les plaques sont vidées sans lavage, les broyats de moustiques sont introduits dans les puits pour permettre la réaction avec les anticorps monoclonaux fixés et la formation éventuelle d'un complexe antigène circumsporozoïtique / anticorps monoclonal. Les plaques sont ensuite lavées deux fois avec du PBS Tween 20 avant d'ajouter dans les puits les anticorps monoclonaux spécifiques conjugués à une enzyme (peroxydase). Si un complexe antigène / anticorps se forme déjà lors du premier temps de réaction, l'anticorps marqué se fixera sur l'antigène circumsporozoïtique. Le test se termine par l'addition du substrat correspondant à l'enzyme après avoir vidé et lavé 4 fois les plaques. La réaction du substrat avec l'enzyme si le complexe antigène/ anticorps/enzyme est en place se traduit par un changement de coloration dans les puits. La lecture est faite avec un lecteur ELISA à 450nm.

Les femelles d'*Anopheles gambiae s.l* utilisées pour l'ELISA ont été capturées sur appât humain pendant trois nuits successives, puis identifiées morphologiquement.

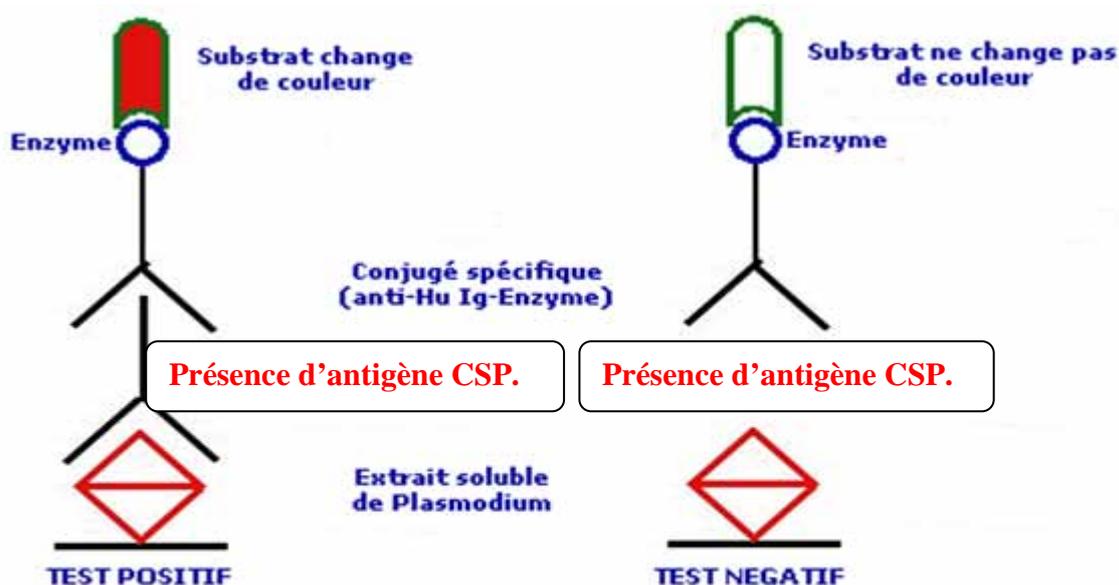


Figure 7 : Principe de l'ELISA pour la détection de la protéine CSP (taux d'infection)

Source : http://fr.impact-malaria.com/web/formation_paludisme/serologie/elisa [43].

4. 8. 2. Recherche des plasmodies par la technique de la goutte épaisse et du frottis mince chez l'Homme (Annexe 4)

Au cours du seul passage effectué en novembre-décembre 2011 pour l'enquête parasitologique, nous avons procédé à un prélèvement capillaire de 5 à 10 microlitres de sang chez tous les sujets volontaires de la population d'étude pour la détection de *Plasmodium* par la technique de la goutte épaisse. Une fois dans la zone d'étude et après que l'information ait été donnée aux chefs de famille sur la méthodologie et la date de l'enquête, l'équipe choisissait un site de commun accord avec les populations où elle s'installait pour recevoir les volontaires. L'enquête prenait fin avec l'atteinte de la taille de l'échantillon requise à la fois pour les adultes et les enfants. Nous confectionnons deux préparations par lame, l'une pour la

goutte épaisse (quantification des parasites) et l'autre pour le frottis mince (identification des espèces). Le seuil de détection du FM est de 100 parasites/ μ l [44]. Cet examen doit par conséquent, être associé systématiquement à la GE, qui détecte des parasitemies plus faibles de l'ordre de 10 à 20 parasites/ μ l [45]. En revanche, la GE ne permet pas le diagnostic de certitude des espèces plasmodiales en raison de la lyse des hématies.

4. 9. Saisie et analyse des données

La saisie des données a été faite avec le logiciel Microsoft Excel 2007, puis elles ont été analysées par les logiciels (SPSS version 12 et R version 3. 0. 1). Le logiciel SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) est un logiciel utilisé pour l'analyse statistique. Le nom de la société qui le revend (SPSS Inc). Il nous a permis de comparer les variables qualitatives en statistiques descriptives.

Le logiciel R (*version 3. 0. 1*) est un logiciel aussi utilisé pour l'analyse statistique. Il a permis de faire le test de Chi^2 de Pearson a été utilisé pour comparer les proportions en fonction des différentes zones et des communes. Les différences seront considérées comme statistiquement significatives lorsque les valeurs de p étaient $< 0,05$.

4. 10. Définition des paramètres entomologiques et *indice plasmodique de la transmission du paludisme*.

- **Fréquence d'*Anopheles gambiae s.l***

Elle exprime la composition des espèces rencontrées. C'est le rapport du nombre d'une espèce donnée sur le nombre total (n) de moustiques capturés multiplié par 100.

- **Taux d'agressivité (ma)**

Elle correspond au nombre moyen de piqûres qu'une personne reçoit d'une espèce vectrice particulière par homme et par unité de temps (nuit, mois, an). Ce paramètre peut être directement estimé à partir des captures sur volontaire. Dans ce cas, il correspond au nombre total de moustiques femelles capturés divisé par le nombre de captureurs. Le taux d'agressivité peut aussi être calculé de façon indirecte lors des collectes par spray-catch. Dans ce cas, c'est le nombre total de femelles gorgées ou semi gravides d'une espèce capturée divisé par le nombre total d'occupants qui ont passé la nuit dans les pièces où les femelles ont

été capturées. Cette estimation suppose deux hypothèses : i) tous les moustiques gorgés ont piqué les occupants de la maison la veille ; ii) aucun moustique gorgé n'a quitté la maison jusqu'à leur capture. Le travail de tri des moustiques en semi-gravides et gorgés n'ayant pas été fait, les résultats de l'agressivité présentés dans le document ont été obtenus à partir des moustiques capturés seulement sur appât humain dans les trois zones retenues (zones 0, 8 et 10) pour cela. Dans ces conditions, l'étude de la variation spatiale et temporelle de l'agressivité a porté uniquement sur les moustiques capturés dans les trois zones de capture sur appât humain.

- **Taux d'infection d'*Anopheles gambiae s.l***

C'est la proportion d'*An. gambiae s.l* porteuse de l'antigène circumsporozoïtique par rapport au nombre total de spécimens testés. Le taux d'infection a été calculé à partir des femelles d'*An. gambiae s.l* capturées sur appât humain et traités par ELISA,

- **Taux d'inoculation entomologique (h)**

Il représente le nombre de piqûres infectantes reçues par homme et par unité de temps (jour, mois ou année). Dans notre étude, il a été estimé en jour.

$h = ma \cdot IS$ ou

$ma = \text{agressivité ;}$

$IS = \text{indice sporozoïtique.}$

Il est estimé pour chaque espèce. La transmission globale est donc la somme des (h) des différentes espèces vectrices.

- **Taux de prévalence parasitaire**

C'est le nombre de sujets porteurs de *Plasmodium* sur le nombre total de sujets examinés, exprimé en pourcentage. Dans le cas de notre étude, nous l'avons déterminé en utilisant la goutte épaisse.

- L'analyse moléculaire (PCR) des femelles d'*An. gambiae s.l* capturées sur appât humain a été entreprise pour identifier les différentes chromosomiques d'*An. gambiae s.l* (Savane - S, Mopti - M) d'*Arabiensis* (A),

4. 11. Considérations éthiques

Le protocole de recherche a été auparavant soumis et approuvé par le comité d'éthique institutionnel de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) du Mali avant son exécution sur le terrain. Toute participation à l'étude était conditionnée à la signature du consentement éclairé pour les adultes et de l'assentiment pour les mineurs. Les captureurs ont reçu une vaccination contre la fièvre jaune et ont été placés sous chimioprophylaxie anti-palustre à base d'amodiaquine et de sulfadoxine-pyriméthamine (AQ+SP) pendant la durée de l'étude et un mois après. Tous les sujets porteurs d'infection ont été traités avec du COARTEM selon les recommandations du PNLP. Les supports servant à la collecte des données étaient conservés de façon confidentielle et n'étaient accessibles qu'aux membres autorisés de l'équipe et sur demande pour les participants qui éprouvaient le besoin de les consulter.

5

Résultats

5. RESULTATS

5. 1. Résultats entomologiques

5. 1. 1. Composition et distribution de la faune culicidienne dans le district de Bamako

Le tableau I donne la répartition des différentes espèces de moustiques capturés au spray-catch et par la technique de la capture sur appât humain. Cinq genres de moustiques ont été rencontrés au cours de l'étude: *Anopheles sp.*, *Culex sp.*, *Aedes sp.*, *Mansonia sp.* et une espèce non identifiée.

En rapport avec la composition de la faune culicidienne, les culex en représentaient 97,1% des moustiques capturés, et les anophèles 2,5%. Quant aux trois autres espèces, elles représentaient moins de 1%.

Tableau I : Composition de la faune culicidienne (fréquence entre parenthèse) capturée dans le district de Bamako en octobre 2011, août et octobre 2012.

Moustiques Techniques	<i>An. gambiae s.l</i>		<i>Culex</i>	<i>Aedes</i>	<i>Mansonia</i>	
	Autre N (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n
Spray-catch	9843	290 (2,9)	9522 (96,7)	30 (0,3)	1 (0,01)	
CSH*	5237 (0,01)	85 (1,6)	5121 (97,8)	30 (0,6)	0	1
Total	15080	375 (2,5)	14643 (97,1)	60 (0,4)	1 (0)	1 (0)

*CSH : Capture sur appât humain

Les spécimens d'Anophèles capturés ont pu être analysés par PCR. Il en résulte la présence de deux membres du complexe *An. gambiae s.l* composé d'*An. gambiae ss* avec les formes chromosomiques Savane (S) et Mopti (M), et *An. arabiensis* (Tableau II).

Nous avons présenté dans le tableau II la répartition des formes chromosomiques en fonction des zones dans les différentes communes du district de Bamako. Il ressort de l'analyse du tableau qu'*An. arabiensis* était présente dans les six communes du district. Trois formes mixtes (A, S, M) étaient observées dans les CII et CV. La forme A était la seule rencontrée en CIII.

Tableau II : Répartition des formes chromosomiques d'*An. gambiae s.l* par commune et par zones.

Communes	Zones	Forme <i>An. gambiae s.l</i>
CI	0, 2, 5	A, S
CII	1,4, 11, 15, 16, 27	A, S, M
CIII	3, 17, 24, 29	A
CIV	8, 18, 20, 22, 23, 28	A, S
CV	7, 9,10, 12, 13, 19, 25, 26	A, S, M
CVI	6, 14, 21	A, S
Total	30	A, S, M

C : Commune ; Formes chromosomiques : A = *Arabiensis* ; S = Savane ; M = Mopti

Nous avons présenté sur la figure 8 la distribution spatiale des *Culicidae* dans le district au cours des trois passages. Il en ressort que la proportion des *Culex* était supérieure à 90% dans toutes les zones d'étude. *An. gambiae s.l* a été observée partout avec des pourcentages variant entre 0,01 et 0,4% par zone. Les *Aedes* étaient présents dans 15 zones sur 30 enquêtées avec des fréquences inférieures à 1%. Le seul spécimen de *Mansonia* a été rencontré dans la zone 0 en CI.

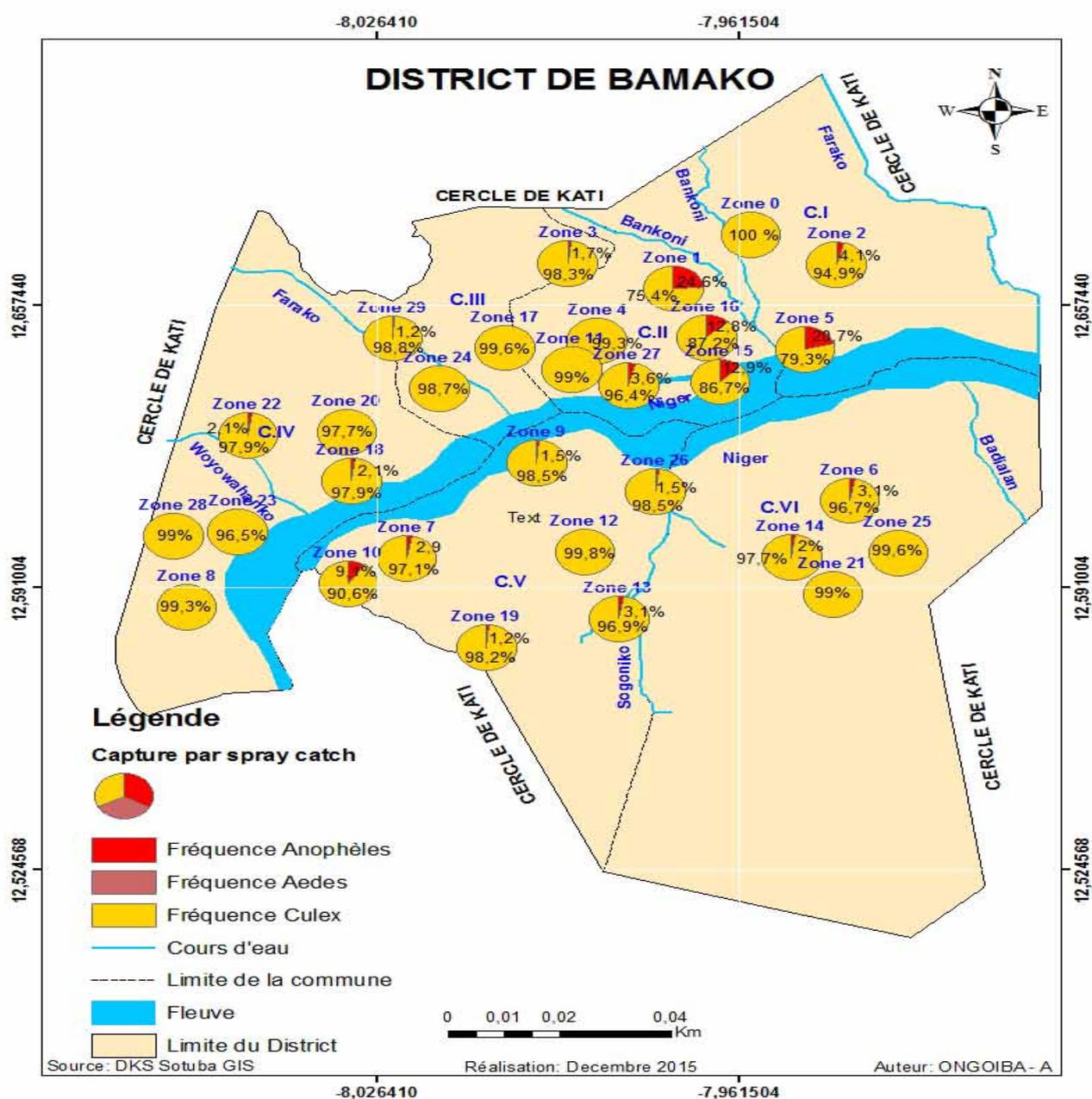


Figure 8: Distribution de la fréquence moyenne des *Culicidae* capturés au cours des trois passages (octobre 2011, août 2012 et octobre 2012 dans les trente zones enquêtées du district de Bamako.

La variation temporelle de la fréquence des moustiques capturés sur appât humain par espèce est donnée par le tableau III. L'analyse du tableau montre que les *Culex sp.* dominaient quel que soit le passage ($p>0,05$).

Tableau III: Variation de la fréquence (%) des moustiques capturés sur appât humain par passage selon les espèces dans le district de Bamako

Passages Moustiques	Octobre 2011		Août 2012		Octobre 2012		N 5237	Total n (%)
	N 1556	n (%)	N 2076	n (%)	N 1605	n (%)		
<i>An. gambiae s.l</i>	37	(2,4)	41	(2,0)	7	(0,4)	85	(1,6)
<i>Culex sp.</i>	1506	(96,8)	2028	(97,7)	1587	(98,9)	5121	(97,8)
<i>Aedes sp.</i>	13	(0,8)	6	(0,3)	11	(0,7)	30	(6)

5. 1. 2. Le taux d'agressivité (ma)

Dans le tableau IV, nous avons présenté les taux d'agressivité des *Culicidae* capturés sur appât humain par passage et par zone. L'analyse du tableau montre que le taux d'agressivité moyen variait significativement d'un passage à l'autre à l'intérieur de la même zone et d'une zone à l'autre ($p < 0,001$).

Tableau IV: Taux d'agressivité (m.a) comparée des *Culicidae* capturés sur appât humain par passage et par zone dans le district de Bamako.

Passages Zones N°	Octobre 2011 n*	Août 2012 n*	Octobre 2012 n*	P1,P3	P2,P3	P1,P2	Total
0	150,5 (602/4)	211,5 (846/4)	227,7 (911/4)	< 0,001	0,1289	< 0,001	< 0,001*
8	120,5 (482/4)	121,5 (486/4)	67,5 (270/4)	< 0,001	< 0,001	0,915	< 0,001
10	118,0 (472/4)	186,0 (744/4)	106,0 (424/4)	0,1244	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Total	389,0 (1556/4)	519,0 (2076/4)	401,2 (1605/4)	0,3883	< 0,001	< 0,001	< 0,001

N°= Numéro; n*= Nombre de piqûres/homme/nuit ; P1, 2, 3 = Passages ; *= Probabilité

Le tableau V résume le taux d'agressivité d'*An.gambiae s.l* capturé sur appât humain au cours des trois passages. Il en ressort que le taux moyen d'agressivité était de 2,4 piqûres par homme et par nuit. Il variait de 0,1p/h/n dans la zone 0 à 5,8p/h/n dans la zone 10. L'agressivité de cette espèce était plus intense au mois d'août et plus faible en octobre 2012.

Tableau V: Variation spatiale du taux d'agressivité (m.a) d'*Anopheles gambiae s.l* capturé sur appât humain dans le district de Bamako.

Passages Zones N°	Octobre 2011 n*	Août 2012 n*	Octobre 2012 n*	Taux ma moyen n*
0	0,0	0,3	0,0	0,1
8	1,0	2,5	0,0	1,2
10	8,3	7,5	1,8	5,8
Total	3,1	3,4	0,6	2,4

N°= Numéro; n*= Nombre de piqûres/homme/nuit.

En revanche, le taux d'agressivité moyen des *Culex* était de 142,3 p/h/n (Tableau VI). Il variait de 196,2p/h/n dans la zone 0 à 101,7p/h/n dans la zone 8. Le mois d'août représentait le pic à la plus forte agressivité de ce genre.

Tableau VI: Variations spatiale du taux d'agressivité (ma) des *Culex* capturés sur appât humain dans le district de Bamako.

Passages Zones N°	Octobre 2011 n*	Août 2012 n*	Octobre 2012 n*	Taux ma moyen n*
0	150,5	210,8	227,3	196,2
8	119,3	118,8	67,0	101,7
10	106,8	177,5	102,5	128,9
Total	125,5	169,0	132,3	142,3

N°= Numéro; n*= Nombre de piqûres/homme/nuit.

Par ailleurs, le taux d'agressivité moyen des *Aedes* était plus faible avec 0,83p/h/n (Tableau VII). Les taux les plus élevés ont été observés en octobre 2011 dans la zone 10 avec 3,00 p/h/n.

Tableau VII: Variation spatiale du taux d'agressivité (ma) des *Aedes* capturés sur appât humain dans le district de Bamako.

Passages Zones N°	Octobre 2011 n*	Août 2012 n*	Octobre 2012 n*	Taux ma moyen n*
0	0,0	0,5	0,5	0,3
8	0,3	0,0	0,5	0,3
10	3,0	1,0	1,8	1,9
Total	1,1	0,5	0,9	0,8

N°= Numéro; n*= Nombre de piqures/homme/nuit.

5. 1. 3. Taux d'infection du vecteur par l'antigène sporozoïtique et taux d'inoculation entomologique (TIE)

L'examen par ELISA des têtes et thorax des spécimens d'*An. gambiae s.l* a permis d'obtenir un taux d'infection de 1,3% (3/234) par la protéine circumsporozoïtique (CSP) de *P. falciparum*. Les anophèles infectés tous capturés en août, l'ont été dans les zones 10 et 12 en CV, puis 16 en CII (**Figure 9**). Pour un taux d'agressivité moyen de 2,4, le taux d'inoculation entomologique (TIE) moyen était de 0,031piqûres infectantes par homme et par nuit, soit 0,93pi/h/mois, notamment au mois d'août.

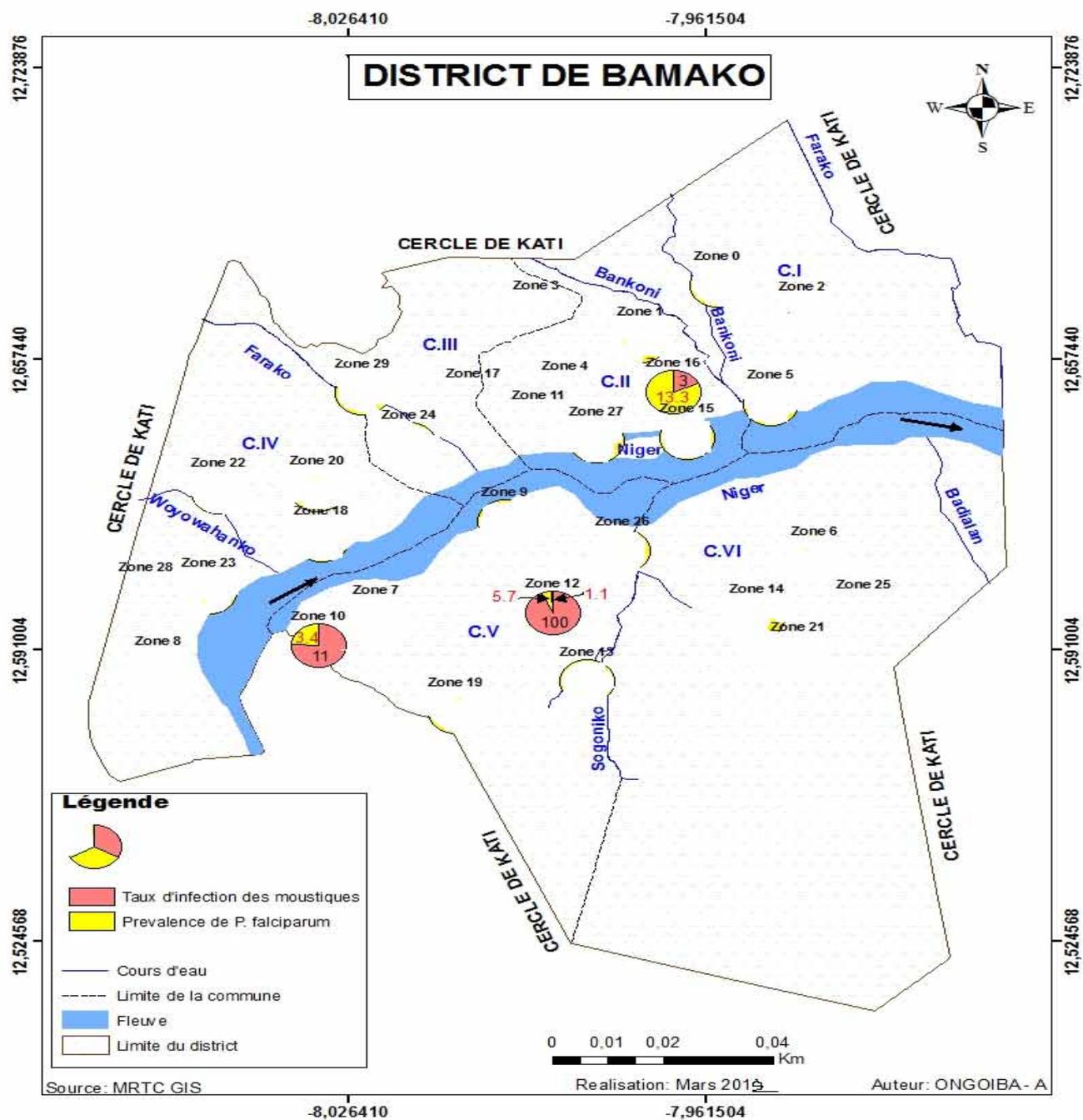


Figure 9 : Taux d'infection d'*An. gambiae s.l.* capturés sur appât humain à ELISA à Bamako.

5. 2. Résultats parasitologiques

5. 2. 1. Résultats démographiques

La répartition de la population d'étude examinée entre enfants et adultes est présentée sur la figure 8. Au total, 2294 personnes ont participé à l'étude dont 1527 enfants (6-14 ans) et 778 adultes (≥ 15 ans). La commune IV a fourni le plus grand échantillon ($n=535$), alors que la CI en comptait le plus faible ($n=180$). (**Figure 10**).

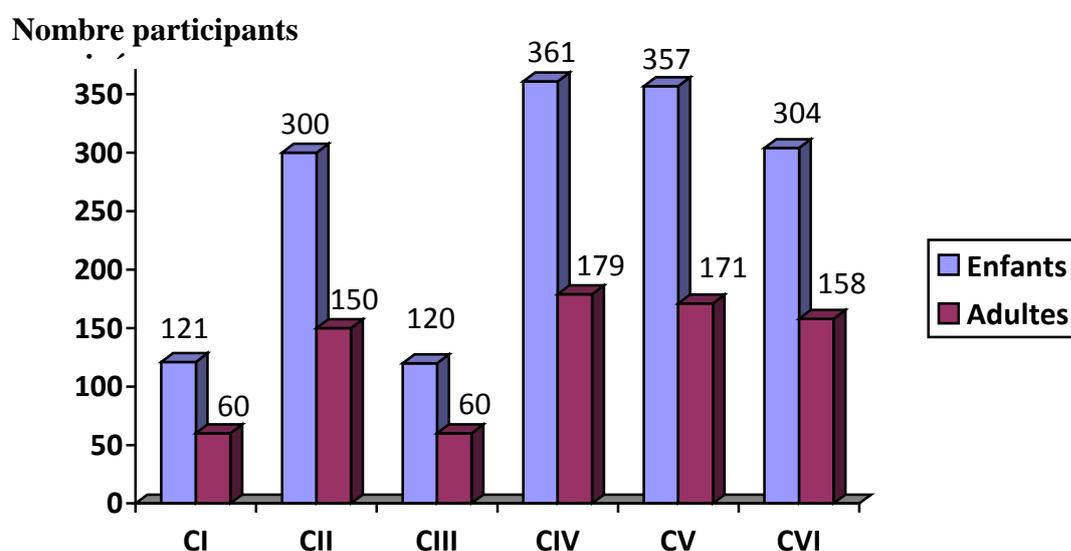


Figure 10: Répartition des participants par commune et par groupe d'âge dans le district de Bamako, octobre 2011, août et octobre 2012.

5. 2. 2. Taux de prévalence du paludisme déterminé en microscopie par la goutte épaisse dans le district de Bamako

La prévalence microscopique de *P. falciparum* était de 8,3% (190/2294). Celle-ci variait significativement d'une zone à l'autre, passant de 25,6% dans la zone 26 en CV à 0% dans les zones 4 et 11 en CII, 17 en CIII, 25 en CVI et 28 en CIV. Des sujets infectés ont été diagnostiqués dans 83,3% (25/30) des zones enquêtées.

La prévalence de *P. malariae* était de 0,4% (9/2294). Le parasite a été retrouvé dans les zones 12 et 26 en CV et dans la zone 29 en CIII.

Nous avons présenté sur la **figure 11** la prévalence des deux espèces plasmodiales observées au cours de l'étude en fonction des communes. Il ressort de cette figure que la prévalence de l'infection à *P. falciparum* (espèce la plus fréquente) était significativement plus élevée en CIII (13,9%) et plus faible en CIV (4,7%) ($X^2=26,97$; $p<10^{-3}$).

Taux de prévalence (%)

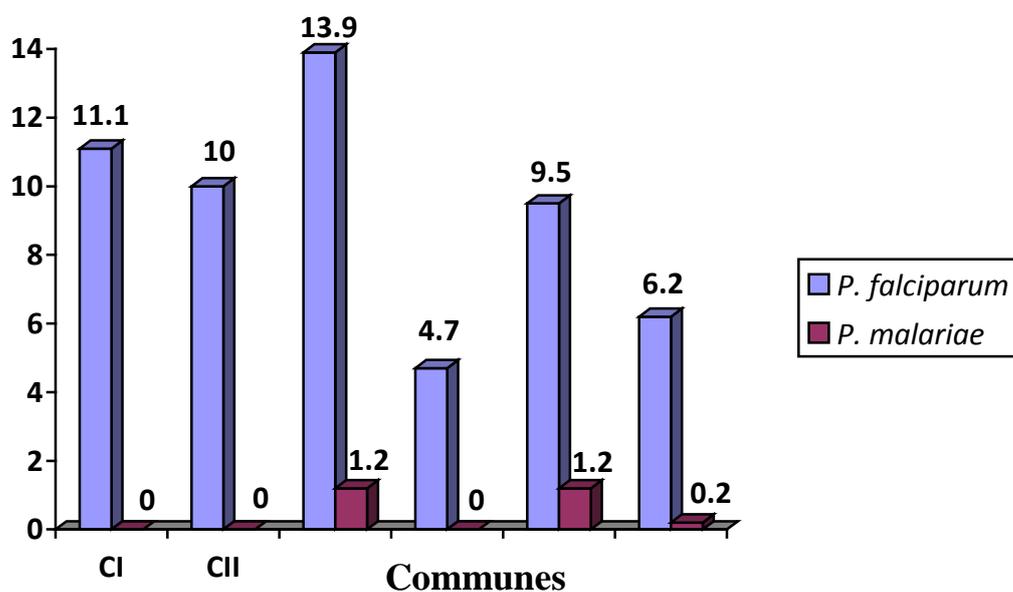


Figure 11: Prévalence de *P. falciparum* et de *P. malariae* estimée en microscopie par goutte épaisse en fonction des communes du district de Bamako en octobre 2011.

La distribution de l'infection en fonction des classes d'âge montre que celle-ci était comparable entre les adultes, 8,4% (19/1527) et les enfants, 7,9% (61/767) ($p=0,68$).

Nous avons présenté simultanément sur la même figure 10, la distribution spatiale des prévalences de *P. falciparum*, *P. malariae* et le taux d'infection d'*An. gambiae s.l* au *P. falciparum* à l'ELISA au cours des trois passages. Il ressort un chevauchement entre l'aire de répartition des spécimens d'*An. gambiae s.l* infectés et celle des sujets humains porteurs de trophozoïtes de *P. falciparum*.

En guise de comparaison entre l'agressivité d'*An. gambiae s.l* et l'indice plasmodique, il ressort que le niveau de nuisance ne reflétait pas celui de l'infection et *vice versa* dans les zones 0, 8 et 10 notamment au mois d'août (**Tableau VIII**). Les deux paramètres étaient même inversement proportionnels.

Tableau VIII : Variation de la prévalence de l'infection en fonction de l'agressivité dans les zones de capture sur appât humain dans le district de Bamako.

Paramètres transmission Agressivité Zones N°	Nombre examiné*	Positif	IP**	
0	89	7	7,9	0,1
8	90	4	4,4	1,2
10	89	3	3,4	5,8

N°= Numéro; * Nombre d'individus examinés

** Indice plasmodique

5. 2. 3. Indice gamétocytaire

L'indice gamétocytaire (IG) était de 0,4% (9/2294). Des sujets porteurs de gamétocytes ont été observés en CI et III (0,1%), en CIV et CVI (0,7%).

5. 3. Résultats cliniques

L'Indice splénique (IS) était de 0,3% (6/2115). Les cas de splénomégalie ont été observés en CIV (n=2) et en CV (n=4).

La prévalence de la fièvre enregistrée au cours de l'étude était de 9,9% (226/2281). Elle était comparable quel que soit le groupe d'âge ($p=0,25$).

Quant à la fièvre déclarée 15 jours avant le début de l'étude, sa prévalence était significativement plus élevée chez les adultes ($p=10^{-2}$) (**Tableau IX**).

Tableau IX: Répartition des sujets fébriles déclarés au cours des 15 derniers jours qui ont précédé l'enquête.

Fièvre Age groupe	Nombre examiné	Présence	Prévalence	<i>p</i>
Enfants	1519	161	10,6	0,00
Adultes	761	125	16,4	
Total	2280	286	12,5	

6

Discussion

VI. DISCUSSION

L'étude de la distribution spatiale de l'agressivité des *Culicidae* et celle de l'infection microscopique de *Plasmodium* détectée par goutte épaisse dans le district de Bamako revêtait un double intérêt par son apport dans les composantes du plan stratégique de lutte contre le paludisme au Mali:

- 1) La lutte anti vectorielle qui passe nécessairement par une bonne connaissance de la distribution du vecteur;
- 2) La lutte contre les épidémies qui intéressent les zones de faible niveau de transmission comme le milieu urbain.

Le risque de plus en plus élevé d'épidémies de paludisme en milieu urbain en Afrique serait la conséquence d'une évolution de l'épidémiologie de la maladie sous l'emprise de l'urbanisation effrénée et anarchique des villes africaines. Le milieu urbain, par l'occupation anarchique de l'espace, la pollution de l'environnement par des déchets ménagers, artisanaux et industriels, offre en principe peu de conditions favorables à la prolifération de certains vecteurs du paludisme. Mais la persistance du paludisme malgré ces conditions particulières suppose l'existence de foyers autochtones de transmission du paludisme pouvant se faire par exemple par l'adaptation des vecteurs à des milieux inhabituels [7].

La période couverte par l'étude parasitologique s'étant limité à un seul passage constituait un point faible de notre étude. La meilleure représentativité temporelle, à défaut d'un passage mensuel, aurait été de répéter aussi l'enquête parasitologique durant les 3 passages couvrant les trois principales saisons climatiques du pays. Toutefois, nous avons été contraints au seul passage pour des raisons financières.

6. 1. Cadre et site d'étude

La ville de Bamako à l'image de toutes les grandes villes d'Afrique a connu des modifications profondes tant sur le plan démographique, comportemental, qu'écologique et infrastructurel à cause de l'urbanisation galopante [46] L'action combinée de ces facteurs joue un rôle majeur sur la bio-écologie des *Culicidae* [9]. La présente étude a couvert l'ensemble de la ville de Bamako et ses environs grâce à l'exploitation des images de satellite offertes en décembre 2009. Ces images s'appuyaient sur les contrastes éco-climatiques (hydrographie, végétation, relief) et anthropogéniques (tas d'ordures, type de maisons) du district de Bamako qui pourraient agir sur la distribution des moustiques. A la différence de cette approche, les études

antérieures réalisées il y a plus de 20 ans avaient plutôt adopté la technique de transect éco-géographique, portant sur quatre quartiers dont le choix avait été guidé par l'influence de l'altitude, la présence de cours d'eau, la position du quartier dans l'espace urbain et le type de quartier (spontané, ancien ou moderne) [47]. Par ailleurs, alors que notre étude portait sur toute la population (adultes et enfants), celle réalisée sous forme de transect était composée seulement de scolaires âgés de 6 à 14 ans.

6. 2. Distribution des différentes espèces de moustiques à Bamako

Quatre genres de *Culicidae* ont été capturés au cours de notre étude: *Anopheles*, *Culex*, *Aedes* et *Mansonia*. Le genre *Culex* représentait 97% contre 3% d'*Anopheles*, et plus spécifiquement *An. gambiae s.l.* Cette prédominance des *Culex* en milieu urbain de Bamako avait été déjà signalée à Bamako en 1990 où ils représentaient 99,3% des espèces rencontrées contre 0,4% d'*Anopheles* et 0,3% d'*Aedes* [47]. Des résultats similaires ont été enregistrés à Dakar en 2009 et 2010 où les *Culex* prédominaient alors que les *Anopheles* représentaient moins de 10% des moustiques capturés [48]. A l'image de Dakar, de nombreuses villes africaines offrent la même structuration de la faune culicidienne avec la prédominance des *Culex*: à Niété au Cameroun, pendant que les *Culex* dominaient la faune culicidienne pendant la saison pluvieuse (79,6%), les anophèles étaient plus abondants pendant la saison sèche (61,9%) [49]; au Burkina Faso, *Anopheles* était apparu dans une faible proportion à Kodené et Dioulassoba avec respectivement (35,6% et 27%). La grande majorité des moustiques capturés appartenaient au genre *Culex quinquefasciatus*, soit 64,3% des espèces [50]. Quoiqu'il en soit, la prolifération de *Culex* en milieu urbain s'expliquerait par le fait que l'écosystème urbain offre en général à *An. gambiae s.l.* des conditions défavorables de reproduction.

An. gambiae s.l. était composée *An. gambiae s.s* (formes S et M) et d'*An. arabiensis* (A). La présence d'*An. arabiensis* dans toutes les communes de Bamako s'expliquerait probablement par la capacité d'adaptation de cette espèce aux biotopes particuliers du milieu urbain. Dans le nord du Bénin à Azèrèkè où la transmission a lieu en juin à octobre pendant la saison des pluies, *An. gambiae s.s.* domine avec 98% des espèces contre 2% d'*An. arabiensis* [51]. A Dakar, sur 496 spécimens testés à la PCR, la population du complexe *An. gambiae* était composée d'*An. arabiensis* (94.8%) and d'*An. melas* (5.2%) [52]. La prédominance des membres d'*An. gambiae s.s* semble la règle également au Kenya [53]. Trois formes (A, S et

M) ont été retrouvées en CII et V ainsi bien les anophèles testés positives au *Plasmodium*. Des résultats similaires ont été observés à Bamako (en 1985) [54] et au Ghana [55].

En revanche, l'anthropisation du milieu urbain, le manque d'écoulement des eaux usées, la multiplicité des fosses septiques et les puisards mal entretenus constituent autant de biotopes hautement productifs pour *Culex* sp. La présence des anophèles dans les biotopes serait surtout liée à certaines pratiques comme le maraichage au cours duquel des puits non protégés favorables à leur développement sont creusés. Dans certains cas, les gîtes étaient plutôt représentés par les piscines abandonnées.

6. 3. Nuisance culicidienne

L'agressivité globale des *Culicidae* sur appât humain était de 145,47 piqûres/homme/nuit. Les taux étaient plus élevés en août, à cause probablement de la forte quantité de pluies qui tombe en cette période occasionnant la formation de nombreux gîtes larvaires. Cette agressivité était liée avant tout aux *Culex* dont les fréquences étaient supérieures à 95%. La présence des collections d'eau polluées (latrines ouvertes, fosses septiques ouvertes, absence de caniveaux pour l'écoulement des eaux usées), la présence d'une végétation souvent dense sont autant de facteurs favorables à la prolifération des gîtes de *Culex* en milieu urbain [56]. L'agressivité élevée en novembre-décembre (fin de la saison des pluies) supposerait que la présence des gîtes ne serait uniquement liée à l'hivernage mais que de nombreuses collections d'eau artificielles existeraient aussi en cette période. A ces facteurs écologiques et anthropogéniques s'ajoutent les types de maison dont certains sont construits en banco, offrant ainsi des lieux de repos aux moustiques. De tels types de maisons se rencontraient notamment dans les vieux quartiers de la commune III.

Quant à *An. gambiae s.l.*, son agressivité (3,42 piqûres/homme/nuit) était proportionnelle à leur fréquence relativement faible; mais quel que soit le niveau d'agressivité des anophèles, la présence d'*An. gambiae* conjuguée à la circulation des parasites parmi la population humaine constituerait un risque d'infection des populations par les plasmodies.

L'agressivité d'*An. gambiae s.l.* était plus élevée en zone 10, alors que celle des culex était dans la zone 0. Dans la zone 10, les *An. gambiae s.l.* ont été capturées à l'intérieur des concessions inachevées [57]. Il s'agissait en effet d'une zone en extension avec de nombreuses concessions en chantier. Moins peuplées, de telles zones étaient aussi moins

polluées que les zones situées à l'intérieur des vieux quartiers. En CIII (centre-ville), la présence des anophèles était surtout liée à la présence de piscines abandonnées et non entretenues. Des résultats similaires ont été observés à Dakar où le taux d'agressivité variait de 0,1 piqûre par personne et par nuit à Yoff Village à 43,7 dans les Almadies en milieu urbain [58]. De nombreuses études montrent que les gîtes larvaires naturels d'anophèles sont en majorité des collections d'eau permanentes, ensoleillées s'étendant sur des surfaces de moins de 10 m ou plus [59, 60]. *An. arabiensis* a été retrouvée dans toutes les six (6) communes de Bamako. Cependant, des études récentes réalisées au Burkina Faso ont montré qu'*An. gambiae s.s* et *An. arabiensis* pouvaient s'adapter à des milieux pollués en zones urbaines [50]. Au cours de ces dernières années, des espèces de larves *An. gambiae s.l* ont été retrouvées dans des sources d'eau polluées en Côte d'Ivoire [61, 62] et au Cameroun [63], mais aussi dans de petites collections contenues dans des boîtes à Accra au Ghana [64, 65]. Des résultats similaires ont été obtenus aussi au Burkina Faso notamment à Bobo-Dioulasso où des larves d'*An. arabiensis* ont été retrouvées en zone urbaine dans des gîtes hautement pollués considérés a priori inappropriés pour des anophèles [65]. De tels résultats suggèrent que la pollution et l'urbanisation ne sont pas des facteurs aussi militants du développement des vecteurs du paludisme dans les villes africaines qu'on pourrait le croire; aussi le paludisme urbain pourrait revêtir davantage de l'importance dans les années à venir.

Dans la zone 0 au contraire, les fortes densités de *Culex* étaient observées dans le quartier de Bakaribougou, un vieux quartier non loti où les eaux de pluies stagnaient à l'intérieur des concessions dont les habitats étaient majoritairement construits en banco ou en huttes.

6. 4. Distribution de l'infection chez le vecteur

La prévalence de portage de la protéine circumsporozoïtique était de 1,3% chez le vecteur. Tous les moustiques infectés ont été capturés au mois d'août dans trois zones dont deux en CV. Ce taux était comparable à celui observé dans trois zones péri-urbaines du Bénin où la prévalence était de 1,6% [51]. Le TIE moyen (h) était de 0,031pi/h/n, soit 0,93pi/h/mois. Des taux similaires ont été également observés dans deux villes du Bénin avec 0,031pi/h/n à Houeyiho et 0,041pi/h/n à Azèrèkè, dans des concessions situées loin des collections d'eau. En revanche, des taux significativement supérieurs de 0,28pi/h/n à Houeyiho et 0,15pi/h/n à Azèrèkè ont été aussi observés mais à proximité des points d'eau selon les mêmes auteurs. Au Kenya, l'évaluation entomologique du potentiel de transmission du paludisme dans trois sites

de niveau de transmission différente a montré que l'IAS était nul en zone péri-urbaine, alors qu'il variait de 0,35% à 2,5% respectivement en zones de transmission modérée et forte [53]. A Dakar, un indice d'antigène sporozoïtique de 0,64% donc supérieur au nôtre a été observé pour *P. falciparum* [8].

6. 5. Distribution de l'infection dans la population humaine

Sur le plan épidémiologique, le paludisme urbain se caractérise généralement par une faible intensité de transmission, l'absence d'immunité dans la population et une forte létalité quel que soit le groupe d'âge [58]. En milieu urbain, l'augmentation de la densité de la population et le retard dans l'acquisition de l'immunité se traduisent par un risque élevé de flambées épidémiques et d'exposition des adultes notamment au paludisme grave fortement léta. A Bamako, 45% de la population d'âge compris entre 20 et 50 ans présentaient un paludisme grave avec une létalité de 18,7% [39]. Une étude réalisée dans une population des femmes enceintes a montré que les prévalences de l'infection maternelle, placentaire et du cordon ombilical étaient respectivement de 2,4%; 1,6% et 0,5 % [66]. Dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré, le paludisme est apparu comme la pathologie la plus fréquente (44,9%) [67, 68]. En somme, toutes ces données relèvent du milieu hospitalier, et ne renseignent ni sur les paramètres de transmission ni sur l'ampleur de la maladie dans la population générale, d'où l'intérêt de la présente étude. Contrairement aux taux élevés enregistrés dans les hôpitaux du district, nous avons plutôt observé une prévalence de 8,5% (198/2341) de paludisme dans la population générale au cours de notre étude. Celle-ci était comparable quel que soit le groupe d'âge (enfants vs adultes) à cause probablement de la faible immunité acquise développée par les adultes en milieu urbain. Les taux les plus élevés ont été observés en CIII (27%) au centre-ville, et en CV (26%) en zone périurbaine. Les plus faibles taux ont été observés dans des zones situées aussi bien à la périphérie de la ville (0% en CII et CV) qu'au centre-ville (CIII). Autrement, la répartition de l'infection même à l'échelle micro-géographique comme la ville peut varier d'un point (commune, quartier) à l'autre. A Ouagadougou (Burkina Faso) par exemple, le taux de prévalence de *P. falciparum* était de 24,1% au centre-ville, 38,6% aux alentours, en zone périurbaine, et 68,7% dans les zones rurales environnantes [69]. Ceci était largement dû au fait que les villes africaines tendent à croître vers l'extérieur sur des périmètres relativement peu développés, avec peu de services [70]. Les populations migrantes originaires des zones rurales tendent à conserver leurs modes

de vie rurale en créant de multiples gîtes favorables au développement des vecteurs [71], et des types d'habitat non adaptés à éviter les piqûres de moustiques [72].

Cependant, comme nous l'avons observé au cours de notre étude, cette tendance de l'infection à s'aggraver au fur et à mesure que l'on s'écarte du centre-ville n'est pas la règle. A Cotonou (Benin), la prévalence du paludisme était plus élevée dans une zone intermédiaire (9,0%) entre le centre-ville (2,6%) et la périphérie (2,5%). Cela s'expliquait par la pratique de l'agriculture urbaine dans la zone intermédiaire et la présence d'une lagune salée à la périphérie moins favorable au développement des vecteurs du paludisme *An. gambiae s.l* [51].

Bien qu'en faible nombre (0,4%), des porteurs de gamétocytes donc de la forme de propagation et de pérennisation du parasite ont été observés. Les communes à risque potentiel de transmission du paludisme étaient les CI, III, IV et VI. Cet indice est d'autant plus élevé que l'on s'éloigne des centres urbains. C'est ainsi qu'à Niakhar une zone rurale du Sénégal, l'IG était de (36,27%) [73].

6. 6. Relation entre agressivité et infection dans la population humaine

Il était apparu dans notre étude que le niveau élevé du taux d'agressivité d'*An. gambiae s.l* ne reflétait pas celui de l'infection plasmodiale dans la population dans les trois zones concernées (zones 0, 8 et 10) notamment au mois d'août où les spécimens d'anophèles ont été capturés. Autrement dit, la pullulation d'*An. gambiae s.l* au mois d'août n'était pas synonyme d'un risque élevé de transmission du paludisme malgré une forte circulation du parasite dans la population surtout dans les zones 0, 8 et 10. La grande mobilité des populations à l'intérieur du district pourrait avoir une relation entre le niveau de l'infection et celui de l'agressivité qui contribue au passage du parasite du vecteur à l'homme. Un phénomène comparable a déjà été observé dans la zone de riziculture irriguée de l'Office du Niger au Mali où la densité élevée (donc l'agressivité) des moustiques était corrélée à un faible indice sporozoïtique qui dépend fortement de l'indice plasmodique dans la population [74]. Dans le nord de la Tanzanie, en dépit de la densité élevée d'*An. arabiensis* en zone de riziculture irriguée, le risque d'infection

par le paludisme basé sur le TIE indique que l'exposition aux vecteurs infectés était 61-68% moins chez les personnes vivant dans les villages en zone de riziculture à cause d'un faible indice sporozoïtique [75] d'*A. arabiensis*. Dans ces différents cas également densité et risque de transmission ne semblent pas varier dans le même sens comme ce fut le cas de notre étude.



Conclusion et Recommandations

VII. CONCLUSION

L'objectif de notre étude était d'étudier les variations spatiales de l'agressivité anophélienne et la transmission du paludisme à Bamako. Les résultats de cette étude montrent qu'il existait quatre genres de moustiques : *Culex*, *Anopheles*, *Aedes* et *Mansonia*. *An. arabiensis* a été observée dans toutes les communes. La fréquence et les taux d'agressivité des *Culicidae* étaient plus élevés en août mois associé à un risque d'exposition élevé aux piqûres infestantes d'*An. gambiae* s.l. *P. falciparum* et *P. malariae* étaient les deux espèces de plasmodie décrites au cours de l'étude. La distribution de l'infection du vecteur et celle de l'infection parasitaire sont en faveur de l'existence de foyers de transmission autochtone du paludisme à Bamako. Toutefois, la transmission était essentiellement focalisée aux zones d'extension de la ville mettant en cause l'urbanisation dans l'épidémiologie du paludisme à Bamako. De tels résultats appellent à l'utilisation d'actions de contrôle ciblées (pulvérisation intradomiciliaire et utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide de longue durée) dans les zones à risque identifiées pour un meilleur contrôle de l'endémie palustre à Bamako.

En perspective, sur le plan santé publique, il conviendra de :

- mener des études sur l'endophilie/exophilie des vecteurs pour mieux décrire les modalités de la transmission.
- étudier la résistance moléculaire des espèces anophéliennes et le niveau de résistance des vecteurs aux insecticides ;
- cartographier le risque de transmission de la maladie en vue d'adopter des mesures ciblées permettant de mieux contrôler, voire d'éliminer le paludisme dans le district de Bamako.



Références

Bibliographiques

REFERENCES

1. *Organisation mondiale de la Santé* - Projet de Stratégie technique mondiale contre le paludisme 2016–2030 ; 2014 ; *Genève*.

2. *World Health Organization*.

http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/ (12-08-2015).

3. Anonyme: Annuaire des statistiques sanitaires 2012 du Système local d'information sanitaire (SLIS).

<http://www.rbm.who.int/countryaction/docs/warn/maliNationalPolicy.pdf> (09- 03- 2015).

4. Doumbo Ogobara: Epidémiologie du paludisme au Mali : étude de la chloroquino-résistance, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation de rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébriles : Thèse Doctorat, Parasitologie, Pathologie, Ecologie, Montpellier II, 1992.

<http://www.keneya.net/fmpos/theses/2005/med/pdf/05M92.pdf> (09- 03- 2015).

5. *United Nations Wall hart* "Urban and Rural Areas 2002".

http://www.un.org/esa/population/publications/wup2003/2003_urban_Rural.pdf

6. Gardiner C, Biggar RJ, Colling WE, Nkrumah FK. Malaria in urban and rural areas of southern Ghana.: a survey of parasitémie, antibodies and antimalarial practices. *Bull WHO* 1984; 62: 607-13.

7. Keating J, Macintyre K, Mbogo CM, Githure JL, Beier JC. Characterisation of potential larval habitats for Anopheles mosquitoes in relation to urban land-use in Malini, Kenya. *Int J Hlth Geograph* 2004; 3:9.

8. Vanessa Machault, Libasse Gadiaga, Cécile Vignolles, Fanny Jarjaval, Samia Bouzid, Cheikh Sokhna, Jean-Pierre Lacaux, Jean-François Trape, Christophe Rogier and Frédéric Pagès. Highly focused anopheline breeding sites and malaria transmission in Dakar. *Malaria Journal* 2009, 4; 8:138.

9. Tbafe JF. L'impact de l'urbanisation sur le paludisme en Afrique Centrale. Thèse d'Etat (sciences), 1986, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay.
10. Omumbo JA, Guerra CA, Hay SI, Snow RW. The influence of urbanization on measures of *Plasmodium falciparum* infection prevalence in East Africa. *Acta Trop*. 2005;93(1):11-21]
11. Trape JF, Zoulani A. Malaria and urbanization in central Africa: the example of Brazzaville. Part III: Relationships between urbanization and the intensity of malaria transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1987;81 Suppl 2:19-25.
12. Machault V, Vignolles C, Pagès F, Gadiaga L, Gaye A, Sokhna C, Trape JF, Lacaux JP, Rogier C. Spatial heterogeneity and temporal evolution of malaria transmission risk in Dakar, Senegal, according to remotely sensed environmental data. *Malar J*. 2010 ;3;9:252.
13. [Omlin FX, Carlson JC, Ogbunugafor CB, Hassanali A. Anopheles gambiae exploits the treehole ecosystem in western Kenya: a new urban malaria risk? *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(6 Suppl):264-9
14. Sharma VP. Malaria and poverty in India. *Current Science*, vol84, n° 2003 4, 11).
15. Tbafe JF Epidémies, l'impact de l'urbanisation sur le paludisme en Afrique Centrale. *Thèse d'Etat (sciences)*, 1986, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay.
16. Baudron, 2003 : Paludisme Urbain : Paludisme De Demain? Ministère de la Santé, du Planning Familial et de la Protection Sociale Madagascar (Communication personnelle).
17. Mouchet J. and Carnevale P : Les vecteurs et la transmission, in Paludisme, ELLIPSE/AUPELF, Editor. 1991.
18. Gaudart J, Touré O, Dessay N, Dicko A, Ranque S, Forest L, Demongeot J and Doumbo O. K. Modelling malaria incidence with environmental dependency in a locality of Sudanese savannah area, Mali. *Open Access, Malaria Journal* ; 2009; 8:61.

19. Qutubuddin M. - Mosquito studies in the Indian subregion, Part I Taxonomy - A brief review, 1960, 133-147p.
20. Stone A. et J. hamon.
http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/cahiers/entomo/18784.pdf
 (05-03-2014). Remarque sur la systématique des moustiques (*Culicidae* ss) (10/11/2015).
21. Roth M. - Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes, ORSTOM, Paris, 1980, 259p.
22. Rodhain F. and A. Boutonnier. Checklist of the Type Specimens of Mosquitoes (*Diptera: Culicidae*) in the Medical Entomology Collections of the Pasteur Institute in Paris. Arbovirus Laboratory, Viral Ecology Unit Institut Pasteur, 25, Rue du Dr. Roux 75724 - Paris Cedex 15, France. *Mosquito Systematics* Vol. 16 (4) 1984, 271p.
23. Robert V., Petrarca V., Carnevale P., Ovazza L. et Coluzzi M. 1989 - Analyse cytogénétique du complexe *Anopheles gambiae* dans la région de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *Ann. Parasito. hum. camp.* 64 : 290-311.
24. Detinova T.S. Age-grouping methods in dipteral of medical importance with special reference to some vectors of malaria. Genève, *Organisation Mondiale de la Santé*, série de Monographie, 1962, n° 47.
25. Carnevale P., Robert V. - Les *anophèles*: biologie, transmission du *plasmodium* et lutte antivectorielle, Marseille, 2009, 391p.
<http://www.beep.ird.fr/collect/upb1/index/assoc/HASH011a/2d5c78c8.dir/IDR-2009-SAN-PRO.pdf> (02-07-2015).
26. http://www.cdc.gov/malaria/images/graphs/life_cycle/malaria_lifecycle.gif 09-01-2016
27. <http://www.memoireonline.com> 10-01-2016

- 28.** Singh B, Kim SL, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J et al. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet* 2004 March 27;363(9414):1017-24)
- 29.** Ta TH, Hisam S, Lanza M, Jiram AI, Ismail N, Rubio JM. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. *Malar J* 2014;13:68.42).
- 30.** Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene PH, Antonio-Nkondjio C, Wondji C, Kengne P, Dia I, Boccolini D, Duchemin JB, Rajaonarivelo V, et: Systématique et biologie des anophèles vecteurs de *Plasmodium* en Afrique, données récentes. *Med Trop* 2003;63: 247.
- 31.** Toure Y. T, 1979 : -Bioécologie des anophèles (*Diptera, Culidae*) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft. Thèse 3eme cycle en biologie animale, Option entomologie, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako, Mali.
- 32.** Toure YT, Petrarca V, Traore SF, Coulibaly A, Maiga HM, Sankare O, Sow M, Di Deco MA, Coluzzi M, 1994. Ecological genetic studies in the chromosomal form Mopti of *Anopheles gambiae s.str.* in Mali, west Africa. *Genetica* 94, 213-223.
- 33.** Toure Y. T ; Doumbo O; Toure A; Bagayoko M ; Diallo M ; Dolo A ; Vernick K.D; Keister D. B; Muratova O ; Kaslow D. C : -Gametocyte infectivity by direct mosquito feeds in an area of seasonal malaria transmission: implications for Bancoumana, Mali as a transmission-blocking vaccine site. *Am J Trop Med Hyg.* 1998. 59: 481- 6.
- 34.** Favia G, Lanfrancotti A ; Spanos L ; Siden-Kiamos I ; Louis C : - Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae s.s.* *Insect Mol Biol*, 2001. 10 (1): p. 19-23.
- 35.** Fanello C; Santolamazza F ; Della Torre, A : -Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med Vet Entomol*, 2002. 16(4): p. 461-4.

36. Della Torre A; Zhijian T ; Vincenzo p : -On the distribution and genetic differentiation of gambia s.s molecular forms.*Insect biochemistry and molecular E*, 2005, 35, 755-769.
37. Programme national de lutte contre le paludisme (PNLP). Rapport annuel, 2015.
38. Ministère de la Santé. Direction nationale de la santé (DNS). Système local d'information sanitaire (SLIS), 2014.
39. Direction Nationale de la Statistique et de l'Informatique (DNSI). Recensement général de la population et de l'habitat, avril 2009.
40. Dicko A, Sagara I, Sissoko MS, Guindo O, Diallo AI, et al. (2008) Impact of intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine targeting the transmission season on the incidence of clinical malaria in children in Mali. *Malar Journal* 7: 123.
41. Gillies MT, Coetzee M: *A Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara (Afrotropical region)*. Publication of the South African Institute for Medical Research, Johannesburg; 1987:55
42. Beier J.C. et al. 3 juillet 1989 (Kenya). Malaria sporozoite detection by dissection and ELISA to assess infectivity of afrotropical Anopheles (*Diptera: Culicidae*).
43. http://fr.impact-malaria.com/web/formation_paludisme/serologie/elisa 28.01.2016
44. De Gentile L, Geneviève F. Le paludisme d'importation : diagnostic au laboratoire. *Rev Fr Lab* 2000 ; 321 : 25-9.
45. Delaunay P, Estran-Pomares C, Marty P. Diagnostic du paludisme : frotti sanguin, goutte épaisse et tests antigéniques. *Méd Mal Infect* 2008 ; 38 : 121-3.
46. Fofana I. L'utilisation de téléphone mobile et dynamique des acteurs dans l'espace urbain de Bamako. Université Gaston Berger de Saint-Louis Sénégal - Master II 2010.

47. Doumbo O, Ouattara NI, Koita O, Maharaux A, Touré YT, Traoré SF, Quilici M. 1990. Approche éco-géographique du paludisme en milieu urbain la ville de Bamako au Mali. *Ecol. Hum.*, vol. VIII, n° 2, 3-15.

http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/41330/beh_1990_2_3.pdf?sequence=1
(11-02-15).

48. Trape JF, Prison G, Spiegel A, Engel C, Rogier C. Combating malaria in Africa. *Trends Parasitol* ;2002, 18 :224-230.

49. Jude D Bigoga, Ferdinand M Nanfack, Parfait H Awono-Ambene, Salomon Patchoké, Jean Atangana, Vitalis S Otia1, Etienne Fondjo, Roger S Moyou and Rose GF Leke. Seasonal prevalence of malaria vectors and entomological inoculation rates in the rubber cultivated area of

Niete, South Region of Cameroon. *Parasites & Vectors*, 2012; 5:197.

50. Dabiré Roch K, Namountougou Moussa, Sawadogo Simon P, Yaro Lassina B, Toé Hyacinthe K, Ouari Ali, Gouagna Louis-Clément, Simard Frédéric, Chandre Fabrice, Baldet Thierry, Bass Chris and Diabaté Abdoulaye. Population dynamics of *Anopheles gambiae s.l.* in Bobo-Dioulasso city: bionomics, infection rate and susceptibility to insecticides. *Parasites & Vectors* 2012 5:127.

51. Yadouléton A, N'guessan R, Allagbé H, Asidi A, Boko M, Osse R, Padonou G, Kindé G, Akogbéto M. The impact of the expansion of urban vegetable farming on malaria transmission in major cities of Benin. *Parasit Vectors*, 2010; 12;3:118.

52. Vanessa Machault, Libasse Gadiaga, Cécile Vignolles, Fanny Jarjaval, Samia Bouzid, Cheikh Sokhna et al. Highly focused anopheline breeding sites and malaria transmission in Dakar. *Malar J.* 2009; 8: 138.

53. Kilama M, David LS, Hutchinson R, Kigozi R, Yeka A, Lavoy G et al. Estimating the annual entomological inoculation rate for *Plasmodium falciparum* transmitted by *Anopheles gambiae s.l.* using three sampling methods in three sites in Uganda.

Malaria Journal 2014 13:111. <http://www.malariajournal.com/content/13/1/111> 28.01.2016

- 54.** Touré Y. Génétique, écologie, et capacité vectorielle des membres du complexe *gambiae s.l* au Mali. Thèse science Aix-marseille III, 1985.
- 55.** Yawson AE, Weetman D, Wilson MD, Donnelly MJ: Ecological Zones Rather Than Molecular Forms Predict Genetic Differentiation in the Malaria Vector *Anopheles gambiae s.s.* in Ghana. *Genetics* 2007, 175:751-761].
- 56.** Awololaa T.S., Oduolaa A.O., Obansaa J.B., Chukwurarb N.J. & J.P. Unyimaduc. *nopheles gambiae s.s.* breeding in polluted water bodies in urban Lagos, southwestern Nigeria. *J Vector Borne Dis*; 2007, pp. 241–244
- 57.** Rapport de l'enquête de validation d'un système de télédétection pour l'évaluation du risque palustre à Bamako; DEAP/MRTC ; 2011, 15p.)
- 58.** Gadiaga L, Machault V, Pagès F, Gaye A, Jarjaval F, Godefroy L, Cissé B, Lacaux JP, Sokhna C, Trape JF, Rogier C. Conditions of malaria transmission in Dakar from 2007 to 2010. *Malar J.* 2011; 21;10:312.
- 59.** Matthys B, Koudou BG, N'Goran EK, et al. Spatial dispersion and characterisation of mosquito breeding habitats in urban vegetable-production areas of Abidjan, Côte d'Ivoire. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology.* 2010;104(8):649–666.
- 60.** Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, et al. *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malaria Journal.* 2011;10, article 154.
- 61.** Matthys B, Vounatsou P, Raso G, et al. Urban farming and malaria risk factors in a medium-sized town in Côte d'Ivoire. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2006;75(6):1223–1231.
- 62.** Matthys B, N'Goran EK, Koné M, et al. Urban agricultural land use and characterization of mosquito larval habitats in a medium-sized town of Côte d'Ivoire. *Journal of Vector Ecology.* 2006;31(2):319–333.

- 63.** Antonio-Nkondjio C, Fossog BT, Ndo C, et al. *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malaria Journal*. 2011;10.
- 64.** Klinkenberg E, McCall PJ, Wilson MD, Amerasinghe FP, Donnelly MJ. Impact of urban agriculture on malaria vectors in Accra, Ghana. *Malaria Journal*. 2008;7.
- 65.** Chinery WA. Impact of rapid urbanization on mosquitoes and their disease transmission potential in Accra and Tema, Ghana. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*. 1995;24(2):179–188.
- 66.** Famanta A, Diakite M, Diawara SI, Diakité SA, Doumbia S, Traoré K, Konaté DS, Doumbia M, Keita AS, Thiéro D, Traoré SF, Doumbia S, Tounkara A. Prevalence of maternal and placental malaria and of neonatal low birth weight in a semi-urban area of Bamako (Mali). *Santé*; 2011; 21(1):3-7
- 67.** Diabaté Konimba : Fréquence et Modalités de prise en charge du paludisme grave et compliqué (Intérêt de l'Optimal Test IT dans le diagnostic du paludisme) en Unités de Soins Intensifs de l'Hôpital National du Point G. *Thèse Médecine 2004 ; 04-M-78*
- 68.** Sidibe T, Sangho H, Traore MS, Cissé MB, Togo B, Sy O, Keïta MM. Morbidity and mortality in the pediatric service at Gabriel Toure's University Hospital in Mali. *Mali Med*. 2008; 23(4):34-7.
- 69.** Wang SJ, Lengeler C, Smith TA, et al. Rapid urban malaria appraisal (RUMA) I: epidemiology of urban malaria in Ouagadougou. *Malaria Journal*. 2005;4.
- 70.** Byrne N. Urban malaria risk in sub-Saharan Africa: where is the evidence? *Travel Medicine and Infectious Disease*, 2007;5(2):135–137.
- 71.** Fournet F, Cussac M, Ouari A, et al. Diversity in anopheline larval habitats and adult composition during the dry and wet seasons in Ouagadougou (Burkina Faso) *Malaria Journal*, 2010;9.

72. Adiamah JH, Koram KA, Thomson MC, Lindsay SW, Todd J, Greenwood BM. Entomological risk factors for severe malaria in a peri-urban area of The Gambia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1993;87(5):491–500.
73. Ndiaye, F., Molez, J. F., & Trape, J. F. (1998). Endémie palustre. 1998) La Situation Démographique et Épidémiologique dans la Zone de Niakhar au Sénégal. Dakar: *ORSTOM*, 118-22.
74. Dolo G, Briët OJ, Dao A, Traoré SF, Bouaré M, Sogoba N, Niaré O, Bagayogo M, Sangaré D, Teuscher T, Touré YT. Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Trop.* 2004;89(2):147-59.
75. Ijumba JN, Mosha FW, Lindsay SW. Malaria transmission risk variations derived from different agricultural practices in an irrigated area of northern Tanzania. *Med Vet Entomol.* 2002 Mar;16 (1):28-38.

9

Annexes

ANNEXES

Annexe 1: Capture sur appât humain

Dans chaque zone, il y avait deux postes de capture distants d'au moins trente mètres l'un de l'autre. Chaque poste de capture était géo-référencé par un point GPS. Les captureurs, au nombre de trente-six au total (4 par zone x 3 zones x 3 passages) étaient des hommes adultes volontaires préalablement formés à la technique de capture nocturne des moustiques. Les captures se déroulaient simultanément grâce à deux personnes dont l'une capturait à l'intérieur et l'autre à l'extérieur (cour ou véranda) de la chambre. Au cours des captures qui s'étalaient de 18h00 à 06h00 du matin, les deux captureurs étaient relayés toutes les deux heures par deux autres. Chaque captureur était équipé d'un aspirateur à bouche, d'une torche, de pots, du coton, de feutre (marqueur indélébile) et de scotch papier portant le lieu et l'intervalle d'heure de capture. Le captureur était assis sur un tabouret. Muni d'une torche, il replie son pantalon et collecte tous les moustiques qui se posaient sur ses jambes avant de les mettre dans les pots ou tubes. Les pots ou tubes étaient ensuite fermés avec du coton, puis placés dans des sacs par tranche d'heure et par poste. Tous les sacs étaient identifiés par l'heure, la date, les numéros de la zone et du poste de capture. La capture des moustiques sur appât humain a été réalisée une seule fois au cours de chaque passage, soit une séance en 2011 et deux séances en 2012.

Annexe 2: Spray catch

Cette technique consiste à pulvériser avec un insecticide l'intérieur d'une chambre choisie dont les portes, les ouvertures et les fenêtres sont fermées au préalable. Toutefois, les occupants des chambres ont été d'abord informés sur les procédures de capture de moustiques. Celles-ci s'effectuaient en étalant des draps blancs sur le sol des chambres, puis en pulvérisant un insecticide. Après 5 à 10 minutes les moustiques tombés étaient recueillis et conservés individuellement, dans des tubes Eppendorf contenant du Silicagel et étiquetés avec le numéro de la chambre et la zone de capture. Les tubes étaient mis dans des sacs et transportés au laboratoire où ils étaient triés en genres et conservés le même jour. Les moustiques ont été identifiés morphologiquement selon les clés de Gillies and Coetzee [24]. Les anophèles étaient conservés individuellement à -20°C. Dans un cahier de capture était consigné le nombre de *Culicinae* capturés par zone d'étude, par poste de capture, par date et heure. Pour les *Anopheles*, le cahier comportait, outre le numéro de la zone d'étude, du poste

de capture, la date, l'heure de capture et de l'espèce de moustique, un numéro unique d'identification de chaque spécimen.

Annexe 3: Technique de l'ELISA

Préparation des solutions

- Solution d'anticorps monoclonal marqué

Prendre pour une plaque, 5 ml de BB et ajouter 10 µl d'anticorps.

- Solution d'anticorps monoclonal non marqué

Pour une plaque, prendre 5 ml de PBS (PH = 7) et ajouter 20 µl d'anticorps.

- Solution de BB (Blocking Buffer)

- A 100 ml de NaOH à 0,1N, ajouter 5 g de caséine (0,5 %) et faire bouillir l'ensemble tout en agitant le mélange jusqu'à l'ébullition ;

- Ajouter petit à petit 900 ml de PBS tout en agitant doucement;

- Ajouter ensuite le thimersol (0,1 g) le phénol rouge (0,02 g) puis laisser refroidir ;

- Le PH est ensuite réglé à 7,4 par addition de HCl à 1N.

- Solution révélatrice (solution d'ABTS)

Pour une plaque, prendre 8 ml d'eau distillée, ajouter 2 ml de phosphatase ``substrat'' et 2 comprimés de p-Nitro-phenyl-phosphate ; dissoudre complètement les comprimés par une agitation douce et prolongée.

- Solutions des contrôles positifs

- Dissoudre 25 µg de réactif dans 25 µl d'eau glycinée ;

- Tube I : mettre 5 µl de la solution de contrôle dans 500 µl de BB

- Tube II : mettre 10 µl du tube I dans 1000 µl de BB

- Tube III ; mettre 10 µl du tube II dans 500 µl de BB.

Mode opératoire

- Mettre après découpage les tête-thorax dans les tubes Eppendorf de 1,5 ml portant les références des moustiques ;

- Ajouter 50ul de BB.NP40 (Notidet P-40) dans chaque tube et écraser mécaniquement à l'aide de petits pilons et ajouter 200 ul BB

- Déposer 50 µl de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puits d'une plaque de microfiltration et laisser incuber pendant 30 mn à la température ambiante ;

- Aspirer l'anticorps, mettre 200 µl de BB et laisser incuber pendant une heure de temps ;

- Aspirer le BB, puis mettre 50 µl de chaque broyat de moustique dans les puits correspondants en respectant l'ordre de la fiche préétablie ;
- Mettre en même temps les contrôles positifs et négatifs dans les puits correspondants et laisser incuber pendant 2 heures;
- Aspirer le broyat des moustiques et laver les plaques deux fois avec la solution de lavage (PBS-Tween 20);
- Déposer 50 µl d'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puits et laisser incuber pendant une heure;
- Aspirer l'anticorps monoclonal marqué et laver les plaques trois fois les plaques avec la solution de lavage;
- Ajouter 100 µl de substrat révélateur (substrat ABTS) puits ;
- Lire après 30 à 60 mn à l'œil nu. Une coloration verte signifie que le moustique est positif c'est-à-dire qu'il héberge ou a hébergé le plasmodium dans ses glandes salivaires.

Annexe 4: Goutte épaisse (GE) et Frottis mince (FM)

Le doigt d'une main (de préférence le troisième ou le quatrième doigt de la main gauche) était désinfecté avec un tampon d'éthanol 70°. A l'aide d'une lancette stérile, une ponction capillaire était faite. La première goutte de sang était essuyée par du coton sec ; la deuxième déposée au centre d'une lame porte-objet propre et portant le numéro d'ordre du sujet. A l'aide de l'angle d'une autre lame, nous procédions à la défibrination mécanique par un mouvement circulaire de façon à étaler le sang sur un cercle d'environ 1 cm de diamètre. Le frottis mince se fait simultanément avec la goutte épaisse en déposant une petite goutte de sang (2 à 3 µl), en son milieu, en glissant avec une autre lame à un angle (de 36°- 45°c) pour un étalement mince. Après séchage du frottis, il est fixé à l'éthanol 70 °c pendant 30 secondes et puis séché avant la coloration. Les lames étaient gardées dans des boîtes de collection type OMS pour séchage et les mettre à l'abri de la poussière et des mouches. Après séchage, nous procédions à leur coloration.

Coloration et conservation des lames

La technique de coloration au Giemsa 3% de concentration (45 minutes) a été choisie. Les lames étaient rangées une à une dans le bac de coloration. La solution de Giemsa était versée dans le bac en prenant soins d'immerger toutes les lames. La fine pédicule de colorant était chassée avec l'eau tamponnée (pH=7,2). Les lames étaient ensuite rincées avec l'eau de

robinet en imprimant au bac de légers mouvements de translation. Elles étaient enfin exposées sur le râtelier pour le séchage. Les lames du passage transversal étaient classées par ordre croissant, dans des paquets de 50, scellées avec du scotch et étiquetées avant la lecture microscopique (au D.E.A.P).

La goutte épaisse était lue à l'aide d'un microscope binoculaire (*Olympus CH X 22*), à l'objectif x100 à immersion, au grossissement 1000.