

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

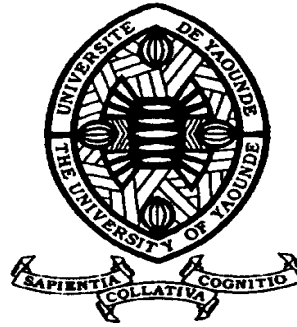
Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCE

DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE
MOLÉCULAIRE ET DE RECHERCHE
SUR LES MALADIES A TRANSMISSION
VECTORIELLE, ET LABORATOIRE
D'IMMUNOLOGIE
CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF
BIOCHEMISTRY

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE,
HEALTH

AND ENVIRONMENTAL
MOLECULAR PARASITOLOGY
AND DISEASE VECTOR
RESEARCH AND
IMMUNOLOGY LABORATORIES
THE BIOTECHNOLOGY CENTRE

**Diversité de la faune anophélienne et épidémiologie du
paludisme en zone de résistance aux pyréthrinoïdes :
cas de trois districts de santé du Nord Cameroun**

THESE

« Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat/Ph.D. en
Biochimie

Par : **TABUE NGOMDJUM Raymond**
Master en Entomologie Médicale

Sous la direction de
LEKE Rose
Professeur Emérite, Université de Yaoundé 1
BIGOGA DAIGA Jude
Maître de Conférences, Université de Yaoundé 1

Année Académique : 2018



UNIVERSITE DE YAOUNDÉ I
FACULTE DES SCIENCES
CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCE
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE 1
FACULTY OF SCIENCES
CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENTAL

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

*LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE MOLÉCULAIRE ET DE RECHERCHE
SUR LES MALADIES A TRANSMISSION VECTORIELLE, ET LABORATOIRE
D'IMMUNOLOGIE
CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE*

*MOLECULAR PARASITOLOGY AND DISEASE VECTOR RESEARCH AND
IMMUNOLOGY LABORATORIES
THE BIOTECHNOLOGY CENTRE*

**Diversité de la faune anophélienne et épidémiologie du
paludisme en zone de résistance aux pyréthriinoïdes :
cas de trois districts de santé du Nord Cameroun**

THESE

« Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat/Ph.D. en Biochimie
Spécialité : Entomologie médicale et Parasitologie »

Par

TABUE NGOMDJUM Raymond

Matricule : **00S053**

Master en Entomologie Médicale

Soutenu Publiquement le 08 Juin 2018 devant le Jury Composé de :

Président : **MBACHAM FON Wilfred**, Professeur, Université de Yaoundé 1

Rapporteur : **LEKE Rose**, Professeur Emérite, Université de Yaoundé 1

BIGOGA DAIGA Jude, Maître de Conférences, Université de Yaoundé 1

Membres : **NJIOKOU Flobert**, Professeur, Université de Yaoundé 1

WONDJI Charles, Professeur, Liverpool School of Tropical Medicine

ATOGHO TIEDEU Barbara, Maître de Conférences, Université de Yaoundé 1

Année 2018

UNIVERSITE DE YAOUNDÉ I
FACULTE DES SCIENCES
CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCE
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE 1
FACULTY OF SCIENCES
CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENTAL

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

*LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE MOLÉCULAIRE ET DE RECHERCHE
SUR LES MALADIES A TRANSMISSION VECTORIELLE, ET LABORATOIRE
D'IMMUNOLOGIE
CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE*

*MOLECULAR PARASITOLOGY AND DISEASE VECTOR RESEARCH AND
IMMUNOLOGY LABORATORIES
THE BIOTECHNOLOGY CENTRE*

**Diversité de la faune anophélienne et épidémiologie du
paludisme en zone de résistance aux pyréthriinoïdes :
cas de trois districts de santé du Nord Cameroun**

THESE

« Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat/Ph.D. en Biochimie
Spécialité : Entomologie médicale et Parasitologie »

Par

TABUE NGOMDJUM Raymond

Matricule : **00S053**

Master en Entomologie Médicale

Soutenu Publiquement le 08 Juin 2018 devant le Jury Composé de :

Président : **MBACHAM FON Wilfred**, Professeur, Université de Yaoundé 1

Rapporteur : **LEKE Rose**, Professeur Emérite, Université de Yaoundé 1

BIGOGA DAIGA Jude, Maître de Conférences, Université de Yaoundé 1

Membres : **NJIOKOU Flobert**, Professeur, Université de Yaoundé 1

WONDJI Charles, Professeur, Liverpool School of Tropical Medicine

ATOGHO TIEDEU Barbara, Maître de Conférences, Université de Yaoundé 1

Année 2018

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix—Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES
B.P. 812 Yaoundé

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace—Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE
P.O. Box 812 Yaounde

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE DOCTORAT/PhD.

Nous soussignés, **Professeur MBACHAM FON Wilfred**, Présidente et Membres du jury de Soutenance de Doctorat/PhD. de **Monsieur TABUE NGOMDJUM Raymond**, étudiant au département de Biochimie, **Matricule 00S053**, Né le 12 Juin 1981 à **Semto**, autorisée par la correspondance N° **08-0731/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD** de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé 1 en date du 02 mai 2018.

Attestons qu'après la soutenance publique de sa Thèse de Doctorat/PhD. en date du **08 Juin 2018** à l'Université de Yaoundé 1, il a effectué toutes les corrections conformément aux remarques et suggestions des membres du Jury.

En foi de quoi la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Yaoundé le **16 JUIL 2018**

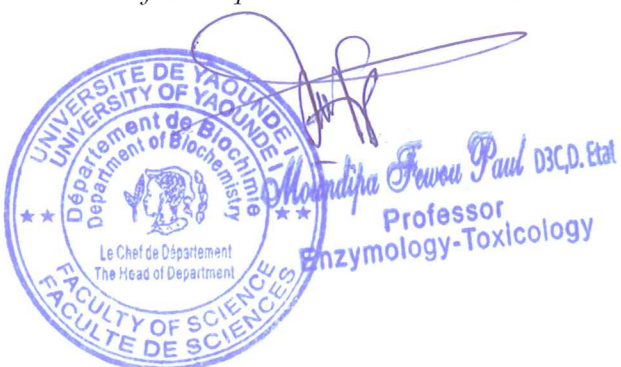
Présidente de Jury


Pr. Wilfred Mbacham, ScD
Public Health Biotechnologist

Membres de Jury

Robert Njiokou
Professeur

Chef de Département de Biochimie



UNIVERSITE DE YAOUNDE I FACULTE DES SCIENCES Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		The University of Yaoundé I Faculty of Science Division of Programming and follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF	

ANNEE ACADEMIQUE 2016/2017
(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : Octobre 2017

ADMINISTRATION

DOYEN : AWONO ONANA, Professeur

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, Professeur

VICE-DOYEN / DSSE : OBEN Julius ENYONG, Professeur

VICE-DOYEN / DRC : MBAZE MEVA'A Luc, Maître de Conférences

Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche : ABOSSOLO Monique,
Chargée de cours

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., Maître de
Conférences

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)

N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfred	Professeur	En poste
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	Vice-Doyen (DSSE)
6	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
7	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
8	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
9	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
10	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
11	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
12	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
13	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
14	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
15	ATOUGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
16	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
17	AZANTSA Boris	Chargé de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
22	EFFA ONOMO Pierre	Chargé de Cours	En poste
23	EVEHE BEBANDOUÉ Marie –Solange	Chargé de Cours	<i>En disponibilité</i>
24	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
25	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste

27	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>
28	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
29	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
30	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KAILAH	Chargé de Cours	En poste
32	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
33	BEBEE FADIMATOU	Assistant	En poste
34	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Assistant	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Assistant	En poste
36	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Assistant	En poste
37	FONKOUA Martin	Assistant	En poste
38	MANANGA Marlyse Joséphine	Assistant	En poste
39	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
40	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFOUNDI REMY	Professeur	En poste
6	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
7	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
8	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
10	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
11	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. /Diplomation FS</i>
12	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
13	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<i>VDRC/Chef dépt FMSB</i>
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
16	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
17	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
18	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
19	MONY NTOINE Ruth	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
20	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. /MINSUP</i>
21	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
22	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
23	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
24	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
25	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
26	JATSA MEGAPTCHE Hermine	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
28	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
29	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste
30	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
31	NGOULATEU KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste
32	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Chargé de Cours	En poste
33	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
34	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
35	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste

36	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
37	YEDE	Chargé de Cours	En poste
38	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
39	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
40	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
41	METCHI DONGFACK Mireille Flore	Assistant	En poste
40	NOAH E. O. Vivien	Assistant	En poste
41	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste
3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)			
1	YOUUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
2	AMBANG Zachée	Professeur	<i>DAARS / UYII</i>
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
5	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
6	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
7	MBOLO Marie.	Maître de Conférences	<i>Coordo. Programme MINFOF</i>
8	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
9	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
10	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
11	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
12	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
13	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
14	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<i>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</i>
15	NGALLE Hermine BILLE	Chargé de Cours	En poste
16	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
17	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
18	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
19	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
20	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
21	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
22	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
23	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
24	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste
4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)			
1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	Chef de Département
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UD</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	<i>Recteur/UN</i>
7	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice-Recteur/ Ubda</i>
8	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	BABALE DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste

13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/Ubda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Recteur /UB</i>
16	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
17	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
18	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
21	KAMGANG YOUNBI Georges	Chargé de Cours	En poste
22	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste
24	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
25	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
26	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
27	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
28	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Assistant	En poste
33	KOUOTOU DAOUDA	Assistant	En poste
34	MAKON Thomas Beauregar	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste

5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/ DPSSA
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	<i>Directeur I.B.A. Foumban</i>
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de dépt. UDs</i>
6	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur /UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Vice-Recteur/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
19	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
20	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
21	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
22	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
23	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
24	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste

26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	Chef Cell/ MINRESI
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	CEA/MINESUP
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDEGOUNBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
32	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
33	NGOMO Orléans	Assistant	En poste

6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (30)

1	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	<i>IGA-MINESUP/Chef Dpt ENS</i>
2	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef de Département <i>Chef Division MINESUP</i>
3	NDOUNAM René	Maître de Conférences	En poste
4	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste
6	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
7	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
8	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
11	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	AMINOUE Halilou	Assistant	En poste
14	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
21	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
22	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
23	MONTHE DJIADEU Valery Martial	Assistant	En poste
24	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
25	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
26	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste

7-DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (33)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	En poste
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	Dir.MINESUP
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	C.E. MINEPAT
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste

12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TCHOUNDA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
26	DJIADU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
30	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste

8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)

1	ETOA François-Xavier	Professeur	Recteur UDO/ Chef de Département
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	ESSIA NGANG Jean Justin	Maître de Conférences	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	ENO Anna Arey	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
11	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Assistant	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Assistant	En poste

9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
4	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
5	WOAFO Paul	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
9	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>Dir.Gén. B. MEKIM</i>
10	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste
11	DJUIDJE KENMOE Gemaine épouse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
12	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt UN</i>
13	EYEBE FOUA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
14	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste

15	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
17	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
18	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
19	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
20	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
21	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
22	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
23	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
24	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINADER</i>
27	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En Poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>Dir.acad/Univ.Int.Etat Cam-Congo</i>
32	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
33	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
34	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
35	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En Poste
36	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
38	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
40	MELI'I Jorelle Larissa	Assistant	En Poste
41	MVOGO Alain	Assistant	En Poste

10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)

1	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	Chef de Department
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	Doyen FASA/ U D
4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
5	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
6	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	Conseiller Technique/UYII
7	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINMIDT</i>
8	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
9	NGOS III Simon	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C./UM</i>
10	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
11	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
12	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
13	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef de Divi/ MINTP</i>
14	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	Chef DAASR FS/UYI
15	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
16	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Dir.Projet Barage Memve'ele</i>
17	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
18	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
19	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
20	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Serv D'ETAT /MINMIDT</i>
21	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>

22	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
23	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
24	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
26	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
27	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
28	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
29	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA MINRESI
30	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
31	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
32	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
33	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de cours	<i>CEA MINRESI</i>
34	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de Cours	En poste
35	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	<i>DG ART</i>
36	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
37	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	<i>En Poste</i>
38	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	<i>En Poste</i>
39	METANG Victor	Assistant	<i>En poste</i>
40	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
41	SABABA Elisé	Assistant	En Poste
42	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
43	TEHNA Nathanaël	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département (Octobre 2017)

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
BC	10 (1)	10 (3)	18 (9)	08 (4)	40 (18)
BPA	10 (0)	9 (1)	14 (6)	11 (4)	44 (11)
BPV	03 (0)	13 (4)	12 (3)	05 (5)	27 (9)
C.I.	6 (1)	8 (0)	14 (3)	7 (2)	35 (6)
C.O.	9 (0)	10 (3)	12 (3)	2 (0)	33 (6)
IN	3 (1)	2 (0)	7 (0)	18 (4)	30 (5)
MA	3 (0)	6 (0)	17 (1)	7 (0)	33 (1)
MB	1 (0)	4 (1)	6 (2)	2 (0)	13 (3)
PH	8 (0)	10 (1)	18 (2)	5 (2)	41 (4)
ST	4 (0)	10 (1)	20 (4)	10 (0)	44 (5)
Total	50 (3)	73 (11)	136 (33)	83 (24)	340 (70)

Soit un total de : 340 (70) dont

- Professeurs 50 (3)
- Maîtres de Conférences 73 (10)
- Chargés de Cours 136 (33)
- Assistants 83 (24)

- () = Nombre de femmes.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

DEDICACE

A

M. et Mme TANKEU

SOMMAIRE

DEDICACE.....	ix
AVANT-PROPOS	xiii
REMERCIEMENTS	xiv
RÉSUMÉ	xvi
ABSTRACT.....	xvii
LISTE DES ABREVIATIONS	1
LISTE DES TABLEAUX	3
LISTE DES FIGURES	4
INTRODUCTION GENERALE.....	6
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	8
I.1. Historique du paludisme.....	9
I.2. Anophèles vecteurs du paludisme	9
I.2.1. Systématique des anophèles	9
I.2.2. Vecteurs du paludisme	11
I.3. Cycle de développement des anophèles	20
I.3.1. Stade aquatique	20
I.3.2. Stade aérien	21
I.3.3. Morphologie de l’anophèle adulte.....	21
I.4. Bio écologie des anophèles	23
I.4.1. Bio écologie des larves.....	23
I.4.2. Bio écologie des adultes	24
I.5. Parasites et cycle biologique	28
I.5.1. Différentes espèces de <i>Plasmodium</i>	28
I.5.2. Cycle parasitaire du <i>Plasmodium</i>	29
I.6. Epidémiologie du paludisme au Cameroun.....	32
I.6.1. Diagnostic du paludisme	34
I.6.2. Morbidité et mortalité liées au paludisme	36
I.6.3. Distribution et bio écologie des vecteurs.....	37
I.7. Stratégies de lutte contre les vecteurs du paludisme.....	37
I.7.1. Politique national en matière de lutte contre les vecteurs au Cameroun.....	38
I.7.2. Lutte anti-larvaire	38
I.7.3. Lutte adulticide.....	39
I.7.4. Réduction du contact homme-vecteur	40
I.8. Résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides	41
I.8.1. Classes d’insecticides	41
I.8.2. La résistance aux insecticides.....	45
I.8.3. Mécanismes de résistance.....	47
I.8.4. Situation de la résistance au Cameroun.....	50
I.8.5. Stratégie nationale de gestion de la résistance.....	52
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	53
II.1. Description du site de l’étude.....	54
II.2. Considérations éthiques.....	56
II.3. Durée et période de l’étude	56
II.4. Population d’étude	56

II.5.	Sensibilité de la population d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l. à la deltaméthrine	56
II.5.1.	Collecte et élevage des larves d'anophèles jusqu'au stade adulte	57
II.5.2.	Test de sensibilité aux insecticides et interprétation	58
II.6.	Rôle des anophèles dans la transmission du paludisme dans les sites d'étude	60
II.6.1.	Collecte et traitement des moustiques adultes	60
II.6.2.	Traitement des anophèles au laboratoire	63
II.7.	Prévalence des espèces plasmodiales dans la population d'étude	69
II.7.1.	Recensement des ménages	69
II.7.2.	Prélèvement et traitement du sang	71
II.7.3.	Détermination de la densité parasitaire	72
II.7.4.	Extraction de l'ADN du <i>Plasmodium</i>	72
II.7.5.	Amplification de l'ADN du <i>Plasmodium</i>	73
II.7.6.	Analyse des produits d'amplifications	75
II.7.7.	Détermination du seuil pyrogène	75
II.8.	Paramètres épidémiologiques du paludisme	76
II.8.1.	Paramètres entomologiques de l'épidémiologie du paludisme	77
II.8.2.	Paramètres parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme	77
II.9.	Analyse des données	78
II.9.1.	Variables considérées pour les études entomologiques	78
II.9.2.	Variables considérées pour les études parasitologiques	79
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS		80
III.1	Sensibilité d' <i>An. gambiae</i> s.l. à la deltaméthrine 0,05%	81
III.1.1	Sensibilité d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le District de santé de Garoua	81
III.1.2	Sensibilité d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le District de santé de Pitoa	83
III.1.3	Sensibilité d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le District de santé de Mayo Oulo	84
III.1.4	Détermination des villages à fortes et faibles résistances	84
III.1.5	Conclusion partielle	86
III.2	Rôle des anophèles dans la transmission du paludisme dans les sites d'études	87
III.2.1	Densité de la faune culicidienne	87
III.2.2	Composition de la faune culicidienne et abondance par district de santé	88
III.2.3	PCR d'identification des membres du complexe <i>Anopheles gambiae</i> s.l.	93
III.2.4	Taux de parturité	94
III.2.5	Implication des vecteurs dans la transmission du paludisme	95
III.2.6	Conclusion partielle	109
III.3	Prévalence du paludisme dans la population d'étude	109
III.3.1	Caractérisation de l'échantillon	109
III.3.2	Détermination de la densité parasitaire dans la population d'étude	111
III.3.3	L'indice plasmodique dans les districts de santé	114
III.3.4	Indice gamétoctaire dans les districts de santé	118
III.3.5	Prévalence des espèces parasitaires	120
III.3.6	Etude analytique	122
III.3.7	Prévalence de la fièvre et de la fièvre associée au paludisme	125
III.3.8	Possession et utilisation des moustiquaires dans la population	131
III.3.9	Effet de la résistance à la deltaméthrine sur la transmission et la prévalence du paludisme	136
III.3.10	Conclusion partielle	139

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	141
Conclusion général.....	142
Perspectives.....	143
ANNEXES.....	144
Annexe 1 : Fiche de capture sur volontaires humains.....	145
Annexe 2 : Matériel et réactifs pour l'extraction de L'ADN.....	146
Annexe 3a : Matériel et réactifs utilisés pour L'ELISA-CSP.....	147
Annexe 3b : Fiche de distribution des broyats de moustiques.....	148
Annexe 3c : Matériel et réactifs pour l'ELISA repas de sang.....	149
Annexe 4 : Fiche de collecte de l'enquête des ménages et de données parasitologiques.....	150
Annexe 5 : Préparation d'une solution-mère de Giemsa.....	158
Annexe 6 : préparation des solutions tampons pour la coloration des plasmodies.....	159
Annexe 7a : Diagnostic du paludisme, P. falciparum et P. malariae.....	160
Annexe 7b : Diagnostic du paludisme, P. ovale et P. vivax.....	161
Annexe 8 : Conditions d'amplification de l'ADN du plasmodium.....	162
Annexe 8 : Géolocalisation des 38 villages dans les trois districts de sante de l'étude.....	163
Annexe 9 : Clairance Ethique.....	164
Annexe 10 : Fiche de report des tests de sensibilité.....	165
Annexe 11 : Liste réactif pour ELISA-CSP et principe.....	166
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	168
LISTE DES PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....	199

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet « *Impact of insecticide resistance on the effectiveness of LLIN in North Cameroon* ». Ce projet multicentrique financée par la Fondation Bill et Melinda Gates à travers l'Organisation Mondiale de la Santé et planifiée dans cinq pays endémiques dont le Bénin, le Kenya, le Soudan, Inde et le Cameroun, visait à évaluer l'impact de la résistance aux insecticides sur l'efficacité des méthodes de lutte antivectorielle notamment les moustiquaires imprégnées d'insecticide et les aspersions-intra-domiciliaires. La mise en œuvre de ce projet s'est faite au Cameroun par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), le Laboratoire de parasitologie moléculaire et de recherche contre les vecteurs de maladies, du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé 1 et Laboratoire de Paludisme de l'OCEAC.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout particulièrement à remercier:

- le **Pr Rose G.F. LEKE** pour ses conseils et ses critiques constructives. Sa rigueur et sa disponibilité ont largement contribué à la réalisation de ce travail;
- le **Pr BIGOGA Jude** pour sa disponibilité, ses conseils, ses critiques judicieuses, sa rigueur et l'attention toujours accrue qu'il a portée à ce travail;
- le **Pr MOUNDIPA Paul** Chef de Département de Biochimie (BCH) pour son soutien, ses conseils et ses encouragements,
- le **Corps enseignant** du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I, pour l'encadrement qu'ils n'ont cessé de m'apporter tout au long de ces années d'études
- Les **Membres du jury** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire, les remarques et suggestions ont permis d'en améliorer la qualité.
- le **Dr FONDJO Etienne**, Ancien Secrétaire Permanent du Programme National de Lutte contre le Paludisme pour son soutien indéfectible, de l'expérience qu'il m'a apporté tout au long de ce travail et de m'avoir permis de faire mes premiers pas dans la recherche en entomologie médicale;
- le **Dr ACHU Dorothy**, Secrétaire Permanent du Programme National de Lutte contre le Paludisme pour ses encouragements tout au long de ces travaux;
- le **Dr AWONO Parfait** pour son aide tant sur le terrain qu'au laboratoire;
- le **Dr KOUAMBENG Célestin** pour sa disponibilité et son aide dans l'élaboration des travaux de terrain;
- le **Dr ATANGANA Jean** pour ses conseils et son aide tant sur le terrain qu'au laboratoire
- **mon épouse TABUE Myrienne et mes enfants**, pour leurs encouragements et sacrifices
- **M. KENGNE Pierre et Mme KENGNE Félicité** pour leurs encouragements;
- **les enfants TANKEU**, pour l'attention particulière accordée à ce travail et pour leur soutien;
- les familles **KAYIM, ACHU, TCHANGONG, DEFFO, POUNA, GUEBOUSSI, FETUE** pour leur soutien et encouragements;
- **M. TCHOUINE Frédéric** pour son assistance dans l'analyse des données;

- **M. PATCHOKE Salomon, M. TOTO Jean Claude**, pour leur assistance technique sur le terrain et au Laboratoire;
- les camarades du Laboratoire de Parasitologie Moléculaire et de Recherche contre les Vecteurs de maladies, **FODJO Barriere, SEUMEN Clovis, ZEUKENG Francis, ESSEMU Livo, GUIMBOUSSE Boris, TEDJOU Armel, NANFACK Ferdinand**, pour leurs aides et conseils, ainsi que pour les moments passés ensemble.
- les équipes de recherche du Centre de Biotechnologie pour leur assistance technique et leurs encouragements;

RÉSUMÉ

La résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthrinoïdes fait craindre la perte de l'efficacité des moustiquaires pour la plupart au Cameroun imprégnées de la deltaméthrine. Afin de mesurer l'effet de cette résistance d'*Anopheles gambiae sensu lato* (s.l.) sur l'épidémiologie du paludisme, des études transversales (entomologiques et parasitologiques) ont été effectuées de 2011 à 2014 dans 38 villages de la Région du Nord-Cameroun durant la saison de haute transmission. Le protocole de l'OMS a permis de tester la sensibilité d'*An. gambiae s.l.* à la deltaméthrine. Parallèlement, des anophèles collectés sur appât humain et au pyrèthre ont respectivement permis de déterminer par des méthodes immunologiques le taux d'infection et le taux d'anthropophilie des différentes espèces. L'identification des anophèles infectés par *Plasmodium falciparum* a permis de mesurer le niveau de transmission du paludisme par la détermination du taux d'inoculation entomologique. Les ovaires d'une proportion des anophèles collectés sur appât humain ont été disséqués pour la détermination de l'âge physiologique. Les anophèles membres du complexe *gambiae* ont été identifiés par la technique PCR, après extraction de l'ADN. Les enquêtes parasitologiques concernaient les enfants de 6 à 120 mois. Les analyses microscopiques et moléculaires ont respectivement permis de déterminer les densités parasitaires et les espèces plasmodiales présentes. La résistance d'*An. gambiae s.l.* à la deltaméthrine dans les villages était élevée, avec des taux de mortalité entre 20 et 90%. Des moustiques collectés sur appât humain, 26,7% appartenaient aux genres *Anopheles*. *Anopheles gambiae s.l.* était le vecteur majeur du paludisme et *An. arabiensis* représentait 92,0% des espèces de ce complexe. Le rôle d'*An. rufipes* dans la transmission du paludisme a été pour la première fois mis en évidence avec un Taux d'anthropophilie de 23,5 %, et un Taux d'Inoculation Entomologique de 0,5 pi/h/n), au côté d'*An. funestus*, *An. pharensis* et *An. paludis*. Le paludisme sévissait à l'état mésoendémique (Indice Plasmodique de 31,1%) dans la population d'étude. Les analyses multivariées ont montré que la résistance d'*An. gambiae s.l.* à la deltaméthrine n'avait aucun effet sur le taux d'infection des vecteurs du paludisme, ainsi que l'indice gamétocytaire. La présente étude suggère que la résistance d'*An. gambiae s.l.* à la deltaméthrine n'affecte pas l'épidémiologie du paludisme dans la Région du Nord Cameroun. Cependant, le niveau de résistance élevé appelle à une surveillance permanente de la sensibilité des vecteurs aux insecticides, ainsi qu'à la mise sur pied d'une politique nationale de gestion de cette résistance.

Mots clés: Paludisme, *Anopheles*, insecticide, résistance, deltaméthrine, Cameroun

ABSTRACT

The resistance of malaria vectors to pyrethroids leads to worries that the effectiveness of the impregnated mosquito nets with deltamethrin in Cameroon could be reduced. In order to measure the effect of this resistance on *Anopheles gambiae sensu lato* (s.l.) to deltamethrin on the epidemiology of malaria, transversal studies (entomological and parasitological) were carried out from 2011 to 2014 in 38 villages of the Northern Cameroon during the high transmission period. The WHO protocol test was used to evaluate the susceptibility of *Anopheles gambiae s.l.* to deltamethrin. At the same time, anophelines collected by human landing catch and pyrethrum spray catch methods were used to determine by immunological methods, the infection and anthropophilic rate of the different species. The identification of the infected *Anopheles* by *Plasmodium falciparum* allowed measuring the level of malaria transmission by determining the entomological inoculation rate. The ovaries of a proportion of the anopheles collected by human landing catch method were dissected for the determination of the parity rate. The anophelines members of the *gambiae* complex were identified by the PCR technique, after extraction of the DNA. Parasitological surveys were conducted on children aged 6 to 120 months. Microscopic and molecular analyses were used to determine the parasitic densities and the plasmodial species. The resistance of *An. gambiae s.l.* to deltamethrin in the villages was high, with mortality rates between 20 and 90%. Amongst mosquitoes collected by human landing catch, 26.7% belong to the *Anopheles* genus. *Anopheles gambiae s.l.* was the major malaria vector and *An. arabiensis* accounted for 92.0% of the species of this complex. The role of *An. rufipes* in malaria transmission was first demonstrated with an anthropophilic rate of 23.5% and an Entomological inoculation rate of 0.5 ib/p/n, alongside *An. funestus*, *An. pharensis* and *An. paludis*. Malaria was mesoendemic (PI = 31.1%) in the study population. Multivariate analyses showed that the resistance of *An. gambiae s.l.* to deltamethrin had no effect on the infection rate and the gametocyte index. The present study suggests that the resistance to deltamethrin from *An. gambiae s.l.* does not affect the epidemiology of malaria in the Northern Region of Cameroon. However, the high level of resistance calls for ongoing surveillance of the susceptibility of vectors to insecticides and the establishment of a national plan for insecticide resistance management.

Keywords: Malaria, *Anopheles*, insecticide, resistance, deltamethrin, Cameroon

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique
ADNr : ADN ribosomal
AID : Aspersion intra domiciliaire
ARN : acide ribonucléique
ASC : Agent de Santé communautaire
BB : Blocking Buffer
CCA-SIDA : Coalition de la Communauté des Affaires contre le SIDA
CDC : Centref or Disease Control and prevention
COTCO : Cameroon Oil Transportation Company
CPS : Chimio prevention du Paludisme saïSsonnier
CSP : Circumsporozoitic protein
CTA : Combinaison Thérapeutique à base d'Artémisinine
CTAB : Cetyl trimethyl ammonium bromide
DDT : Dichloro Diphényl Trichloroéthane
DNTP : Dinucléotide Triphosphate
DP : Densité Parasitaire
DS : District de Santé
EDS : Enquête Démographique et de Santé
EDTA : Ethylene Diamine Tetra-Acid
ELISA : Enzyme - Linked Immunosorbent Assay
EPC : Enquête Post Campagne
ETS : External Transcribed Spacer
GE : Goutte Epaisse
GPIRM : Global Plan for Insecticide Resistance Management
Hin 6I : Haemophilus influenzae
HR : High Resistance
HRP : Histidin Rich Protein
Ig G : Immuno-globuline G
IG : Indice Gamétocytaire
IGS : Intergenic Spacer
INS : Institut National de Statistique

IP : Indice Plasmodique
ITS : Internal Transcribed Spacers
Kdr : knock down resistance
LR : Low resistance
MICS : Multiple Indicator Surveys
MINSANTE : Ministère de la Santé Publique
MII : Moustiquaires Imprégnées d’Insecticides
MILDA : Moustiquaires Imprégnées d’insecticides à Longue Durée d’Action
OCEAC : Organisation Contre les Epidémies en Afrique Centrale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
Pb : Paire de bases ;
PBS: Phosphate Buffered Saline
PCR: Polymerase Chain Reaction
pLDH : *Plasmodium* Lactate Déshydrogénase
PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme
PSNLP : Plan Stratégique National de Lutte contre le Paludisme
QBC : Quantitative Buffy Coat
QSP : Quantité Suffisante Pour
RBM : roll back malaria
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
RPM : Revolution Per Minute
s.l.: *sensu lato*
s.s. : *sensu stricto*
SIDA : Syndrome de l’Immuno-Déficience Acquise
TBE : Tris Borique EDTA
TDR : Test de Diagnostic Rapide
TKd : Temps de knock down
TIE : Taux d’Inoculation Entomologique
Taq : *Thermus aquaticus*
TPI : Traitement Preventif Intermittent
UNICEF : United Nations Children's Fund
UV : Ultra Violet
WHO : World Health Organisation

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Propriétés chimique et physique des Pyréthrine.	44
Tableau II : Répartition des villages dans les districts de santé.....	55
Tableau III : Milieu réactionnel pour la PCR d'indentification des membres du complexe <i>gambiae</i> (Fanello <i>et al.</i> , (2002)...	64
Tableau IV : Séquences d'amorce pour l'amplification (Snounou <i>et al.</i> , 1993).	74
Tableau V : Odd ratio des fièvres et la fraction attribuable au paludisme par classe de densité parasitaire	76
Tableau VI : Résultat des tests de sensibilité OMS d' <i>An.gambiae</i> s.l. à la deltaméthrine 0,05% par districts de santé	82
Tableau VII : Détermination des villages de forte et faible résistance à la deltaméthrine 0,05% suivant la médiane	85
Tableau VIII : Composition de la faune générique agressive dans les trois districts de santé	87
Tableau IX : Composition de la faune culicidienne à Garoua	89
Tableau X : Composition de la faune culicidienne à Pitoa	90
Tableau XI : Composition de la faune culicidienne à Mayo Oulo.....	92
Tableau XII : Origine du repas de sang des anophèles	99
Tableau XIII : Taux d'infestation des espèces anophéliennes.....	100
Tableau XIV : Variations annuelles de l'indice d'infection à <i>P. falciparum</i> des espèces vectrices dans le DS de Garoua	102
Tableau XV : Variations annuelles de l'indice d'infection à <i>P. falciparum</i> des espèces vectrices dans le DS de Pitoa.....	103
Tableau XVI : Variations annuelles de l'indice d'infection à <i>P. falciparum</i> espèces vectrices dans le DS de Mayo Oulo	104
Tableau XVII : Variations annuelles du taux TIE des espèces anophéliennes dans les trois districts de santé	108
Tableau XVIII : Répartition des enfants par sexe, année et par district de santé.....	110
Tableau XIX : Répartition des enfants par tranche d'âge et par district de santé.....	111
Tableau XX : Classification de Bruce Chwatt de la densité parasitaire.....	112
Tableau XXI : Répartition en classe de densité parasitaire des enfants infectés par <i>Plasmodium</i> , par district de santé	113
Tableau XXII : Répartition de la densité parasitaire moyenne par tranche d'âge.....	114
Tableau XXIII : Résultats de l'indice plasmodique par district de santé et par année	115
Tableau XXIV : Distribution des espèces plasmodiales rencontrées par district de santé.....	121
Tableau XXV : Résultats de la GE selon la tranche d'âge des enfants et par district de santé.....	122
Tableau XXVI : Cas asymptomatiques et de fièvres par district de santé et par tranche de densité parasitaires.	125
Tableau XXVII : Répartition des cas asymptomatiques et de fièvres dans les trois districts de santé.....	126
Tableau XXVIII : Répartition des cas asymptomatiques et des fièvres dans les districts de santé.....	128
Tableau XXIX : Seuils pyrogènes et fraction de fièvre attribuable au paludisme par district et par tranches d'âge	131
Tableau XXX : Possession des moustiquaires dans les ménages enquêtés	132
Tableau XXXI : Niveau de couverture universelle en moustiquaires dans les ménages	133
Tableau XXXII : Utilisation de la moustiquaire par les enfants dans les ménages enquêtés.....	133
Tableau XXXIII : Résultats de la GE en fonction de l'utilisation de la moustiquaire la nuit précédent l'enquête	135

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Systématique des Culicidae (Harbach, 2004).....	10
Figure 2 : Différenciation morphologique des Anophelinae des Culicinae d’après Bruce-Chwatt, (1985).....	11
Figure 3 : Anophèle au cours d’un repas de sang (SAM, 2014).....	12
Figure 4 : Distribution mondiale des <i>Anophèles</i> . (CDC, 2012).....	14
Figure 5 : photographie de chromosome polytène d’ <i>Anopheles gambiae</i> s.s. (cliché Agbor JP)	15
Figure 6 : Différentes inversions sur le chromosome 2R chez quatre espèces du complexe <i>An. gambiae</i>	16
Figure 7 : Aires de distribution des espèces <i>An. gambiae</i> (forme S) et <i>An. coluzzii</i> (formes M)	17
Figure 8 : Schéma de la structure de l’ADN ribosomal chez <i>An. gambiae</i> (Source : Gentile <i>et al.</i> , (2002)).....	18
Figure 9 : Mutations spécifiques chez trois espèces du complexe au niveau d’IGS (Source : Collins & Paskewitz, (1996)) .	19
Figure 10 : Cycle biologique d’un anophèle (Source : Knols, 2011).....	20
Figure 11 : Morphologie d’un anophèle femelle adulte (Source : Gillies & de Meillon, 1968)	22
Figure 12 : Variation de l’état de réplétion de l’anophèle femelle durant le cycle trophogonique (Source : Service, 2012)	26
Figure 13 : Cycle de vie du parasite du paludisme (Source : CDC, 2017)	31
Figure 14 : Les grandes phases du cycle de développement du <i>Plasmodium</i> ,	31
Figure 15 : Faciès épidémiologique du paludisme au Cameroun (Source PNLP 2010, Cameroun).....	33
Figure 16 : Réaction chimique de l’hydrolyse l’acétylcholine	42
Figure 17 : Biosynthèse des pyréthrinés naturels.....	45
Figure 18 : Développement d’une résistance à un insecticide dans une population de moustiques (Source Knols, 2011	46
Figure 19 : Schéma général des mécanismes de la résistance aux insecticides chez les insectes	47
Figure 20 : Sous-unité alpha du canal sodium (Source : Moignot <i>et al.</i> , 2009).....	49
Figure 21 : Distribution de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides au Cameroun (Source : IR Mapper)	51
Figure 22 : Carte sanitaire de la Région du Nord montrant les districts de santé sélectionnée (1, 5 et 6).....	55
Figure 23 : Prospection et collecte des larves de moustiques sur le terrain (Tabue).....	57
Figure 24 : Bol contenant les larves d’anophèles en élevage (Tabue)	58
Figure 25 : Laboratoire de terrain (Tabue)	59
Figure 26 : Séance de capture nocturne sur appât humain.....	61
Figure 27 : Aspect des ovaires nullipares et pare au microscope.....	61
Figure 28 : Séance d’examen des draps et collecte des moustiques (Tabue, 2014).....	62
Figure 29 : Taille des bandes attendues après PCR et digestion enzymatique des espèces du complexe <i>An. gambiae</i>	65
Figure 30 : Schéma du principe de l’ELISA repas de sang.	68
Figure 31 : Plaque typique d’ELISA repas de sang	69
Figure 32 : Identification des membres du complexe <i>Anopheles gambiae</i> s.l.	93
Figure 33 : Variations du Taux de parturité chez les espèces vectrices dans les trois districts de santé.....	94
Figure 34 : Variations annuelle de l’agressivité moyenne des espèces vectrices des trois districts de santé	95
Figure 35 : Comportement de piqûre des espèces anophéliennes dans les trois districts de santé.....	96
Figure 36 : Cycle de piqûre des anophèles dans les trois District santé.....	98
Figure 37 : Plaques ELISA CSP indiquant les anophèles infectés par la coloration en bleue	100
Figure 38 : Indice plasmodique selon les villages dans les trois districts de santé	117
Figure 39 : Indice gamétocytaire selon les districts de santé.....	118
Figure 40 : Fréquence des Indice gamétocytaire des villages des trois districts de santé	119
Figure 41 : Résultats de la GE selon la tranche d’âge des enfants.	123
Figure 42 : Indice gamétocytaire selon la tranche d’âge des enfants.	124
Figure 43 : Sensibilité et spécificité cumulée des trois districts de santé.....	127

Figure 44 : Sensibilité et spécificité par district de santé.....	129
Figure 45 : Sensibilité et spécificité par tranche d'âge dans les trois districts de santé.	130
Figure 46 : Analyse de l'effet de la résistance d' <i>An. gambiae</i> s.l. à la deltaméthrine et l'épidémiologie du paludisme.	139

INTRODUCTION GENERALE

Contexte

Plus d'un siècle après la découverte de l'agent causal du paludisme par Laveran et du rôle vecteur de l'anophèle dans sa transmission par Ronald Ross et Bastianelli-Bignami (Cox, 2010), le paludisme demeure un fléau pour l'humanité. Selon l'OMS, 92% de décès liés à cette maladie ont lieu en Afrique, les enfants de moins de cinq ans représentant 70% de ces décès (WHO, 2016). Au Cameroun, la morbidité liée à la maladie était de 30% et le taux de mortalité hospitalière de 19% en 2015 (INS & ICF, 2012). Parmi les dix régions du pays, celle du Nord enregistrait l'un des taux les plus élevés du nombre de cas et décès attribuables au paludisme (INS & ICF, 2012). Comme dans l'ensemble du pays, les enfants de moins de 5 ans y sont les plus affectés, avec une prévalence parasitaire moyenne de 33,3% en 2011 et une mortalité de 38 % (MINSANTE, 2011, 2015). Pour faire face à cette situation, le gouvernement a donné la priorité au paludisme dans la stratégie sectorielle de la santé au travers de la mise en œuvre des interventions pour la prévention telles que le Traitement Préventif Intermittent (TPI), la Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier (CPS), la prise en charge correcte des cas et surtout la distribution gratuite des Moustiquaires Imprégnées d'insecticides à Longue Durée d'Action (MILDA).

L'intensification des moyens de lutte au Cameroun et particulièrement les campagnes de distribution gratuite des MILDA a permis de réduire l'incidence de la maladie. De manière générale, la mortalité liée au paludisme est passée de 29% en 2009 à 22,04% en 2013 (MINSANTE, 2009, 2013). Cependant, du fait de l'intensification de la lutte contre les vecteurs du paludisme à base d'insecticide, l'apparition des résistances a été observée dans presque tous les pays d'Afrique subsaharienne (Knox *et al.*, 2014). Des quatre classes d'insecticides (pyréthrinoïdes, organochlorés, organophosphorés et carbamates) utilisées dans la lutte antivectorielle, seuls les pyréthrinoïdes sont recommandés par l'OMS pour l'imprégnation des MILDA (Hougard *et al.*, 2003). La résistance des vecteurs du paludisme à la deltaméthrine (insecticide de la classe des pyréthrinoïdes) a été signalée dans plusieurs parties du pays (Bigoga *et al.*, 2007b, 2012), y compris la région du Nord du Cameroun (Etang, 2003; Chouaibou *et al.*, 2008). Cet insecticide étant celui contenu sur la plupart des MILDA distribuées à la population au Cameroun, la résistance des vecteurs pourrait avoir des effets inattendus sur l'épidémiologie du paludisme.

L'effet de la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthrinoïdes sur l'efficacité de la MILDA et indirectement sur la transmission du paludisme reste ambigu. Certaines études

suggèrent que l'exposition fréquente des moustiques résistants à des doses d'insecticides des MILDA est à même de réduire considérablement leur potentiel de transmission (Alout *et al.*, 2014; Viana *et al.*, 2016), tandis que pour les chercheurs comme Churcher *et al.*, 2016, cette résistance augmente la transmission de la maladie. C'est dans ce contexte qu'un projet a été planifié dans trois districts de santé (DS) de la Région du Nord Cameroun afin d'évaluer l'effet de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées d'insecticide. Le présent travail fait partie intégrante dudit projet et visait à mesurer l'influence du niveau de résistance à la deltaméthrine d'*An. gambiae* s.l. sur la transmission et la prévalence du paludisme en saison des pluies dans 38 villages de trois districts de santé du Nord-Cameroun.

Hypothèse de recherche

L'augmentation de la résistance des vecteurs du paludisme à la deltaméthrine n'a aucun effet sur l'épidémiologie du paludisme.

Objectif général

Mesurer l'influence du niveau de résistance à la deltaméthrine d'*An. gambiae* s.l. sur la transmission et la prévalence du paludisme.

Objectifs spécifiques

1. Déterminer le niveau de la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine ;
2. Identifier et caractériser la faune anophélienne et son rôle dans la transmission du paludisme durant la période de haute transmission ;
3. Déterminer la prévalence du paludisme chez les enfants de 6 à 120 mois durant la période de haute transmission ;

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Historique du paludisme

Le paludisme ou malaria sont des noms désignant des épisodes de fièvre intermittente des régions inondées (*Palus ou Paludis* : marais en Latin) et des régions où l'air est pollué (*Malaria* : mauvais air en Italien). Les premières références connues sont les textes médicaux Chinois rapportant des cas de paludisme qui remonte à 2700 avant notre ère et qui parlent de démons armés du marteau, du brasero et de la marmite d'eau froide, reflets des trois phases successives de l'accès palustre (céphalée, fièvre, sueurs). Des observations faites par des Egyptiens 1500 ans avant JC relèvent le rapport entre l'arrivée des pluies et les épidémies de fièvre ; une équipe de bio-anthropologues a mis en évidence la présence de *Plasmodium falciparum* dans les momies égyptiennes vieilles de 5000 ans (Miller *et al.*, 1994).

En 1878, le médecin militaire Français Laveran met en évidence l'agent étiologique de la maladie dans le sang des patients souffrant d'accès fébriles. Par la suite, Ross décrit la présence ainsi que le développement du *Plasmodium relictum* chez le moustique et démontre que la transmission du *Plasmodium relictum* à l'oiseau se fait par la piqûre de cet insecte, confirmant les hypothèses de Laveran et de Manson (Cox, 2010). Marchiafava-Bignami et Golgi décrivent trois des cinq espèces plasmodiales pathogènes pour l'homme : *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium falciparum*. Grassi découvre en même temps que les moustiques du genre *Anopheles* peuvent être vecteurs du *Plasmodium* chez l'homme (Cox, 2010). *P. ovale* ne sera décrit que plus tard par Stephens et *Plasmodium knowlesi* par Knowles.

La description d'un développement exo érythrocytaire de *Plasmodium elongatum* dans les cellules réticulo-endothéliales de la moelle osseuse des oiseaux est donnée par Raffaele. Plus tard, Short et Garnahm découvrent les formes exo érythrocytaires dans le foie d'un singe, puis dans le foie d'un volontaire humain infecté expérimentalement par *P. vivax* (Cox, 2010). Ces chercheurs étudient et décrivent alors le cycle hépatique de *P. falciparum* et de *P. vivax*.

La découverte des vertus curatives de l'écorce de quinquina (*Cinchona ledgeriana*) par Don de Francisco Lopez en 1930 marque le début de l'ère thérapeutique et c'est deux siècles plus tard que les chimistes Français Pelletier et Caventou vont isoler la quinine, principal alcaloïde actif du quinquina (Bruce-Chwatt, 1988).

I.2. Anophèles vecteurs du paludisme

I.2.1. Systématique des anophèles

Il existe environ 3.300 espèces de moustiques réparties dans des milieux très divers à travers le monde (Service, 1980); parmi lesquels 484 moustiques appartiennent au genre

Anopheles (Harbach, 2004) dont une soixantaine assurent avec plus ou moins d'efficacité la transmission des plasmodies humains (Molyneux, 1994). D'autres espèces de moustiques telles que *Culex sp*, *Aedes sp*, *Mansonia sp*, *Coquillettidia sp* peuvent être vecteurs d'autres maladies (arboviroses) mais sont inaptes à transmettre le paludisme humain (Molyneux, 1994). Tous les moustiques présentent une grande diversité biologique et vivent dans diverses conditions écologiques auxquelles ils s'adaptent. Leur cycle biologique, leur reproduction et leur dispersion varient en conséquence (Pates & Curtis, 2005; Lyimo & Ferguson, 2009). Les moustiques regroupent l'ensemble des insectes appartenant à la famille des Culicidae, subdivisée en trois sous-familles : les Toxorhynchitinae, les Culicinae et les Anophelinae, cette dernière étant la sous-famille dans laquelle l'on retrouve tous les vecteurs du paludisme (Figure 1)

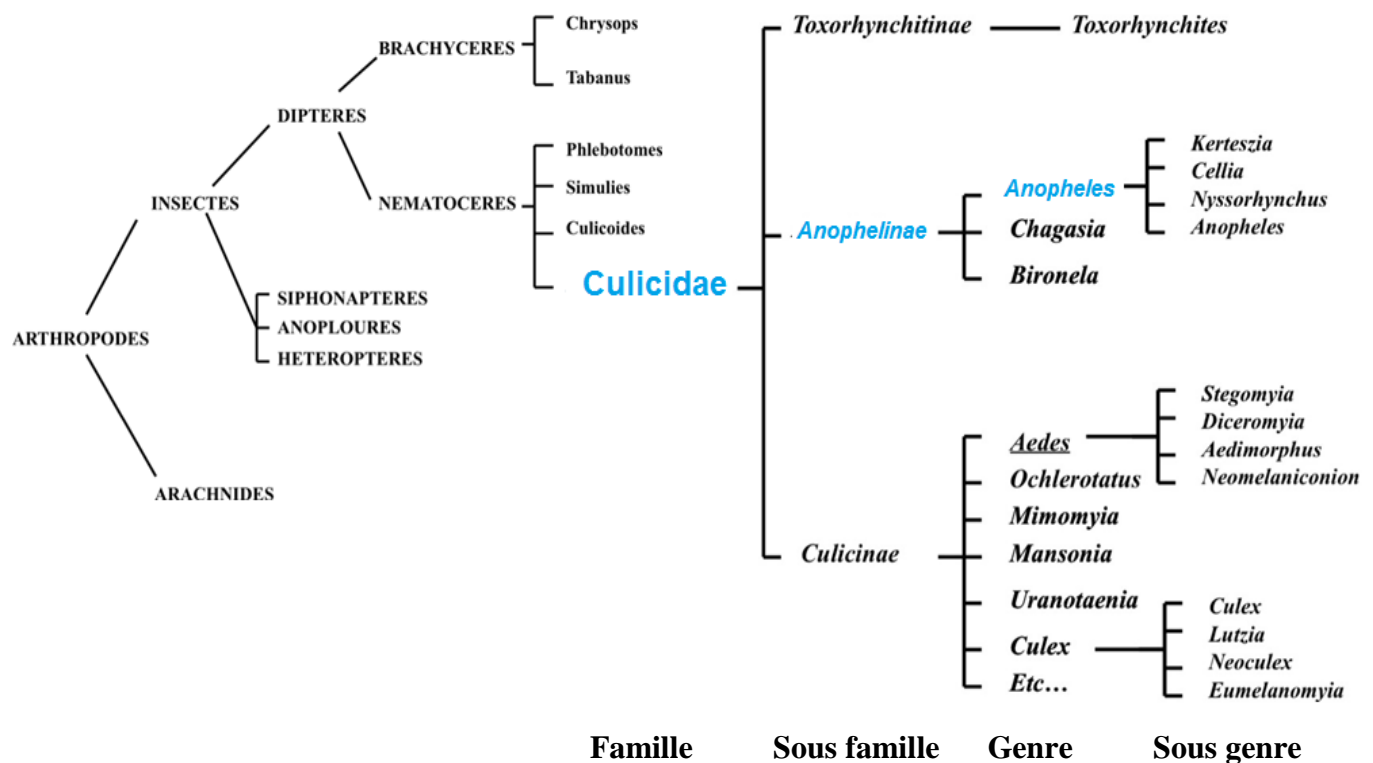


Figure 1 : Systématique des Culicidae (Harbach, 2004)

Il est possible de différencier morphologiquement les Anophelinae des Culicinae à chaque étape de développement du moustique. En effet les *Anopheles* se distinguent des moustiques du genre *Culex* et *Aedes* par plusieurs traits morphologiques. Les œufs des anophèles sont dotés de flotteurs et l'absence de siphon au niveau des stigmates respiratoires amène les larves à rester parallèlement sous la surface de l'eau. La position au repos des adultes

est généralement oblique par rapport au support et les femelles ont des palpes maxillaires aussi longs que la trompe alors que chez les mâles, ils sont renflés aux extrémités (Figure 2)




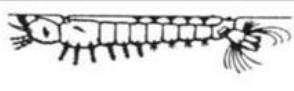


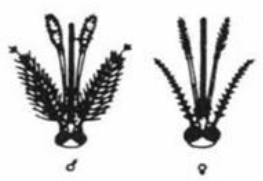
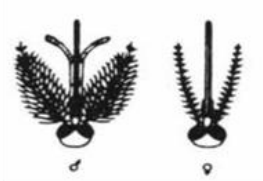
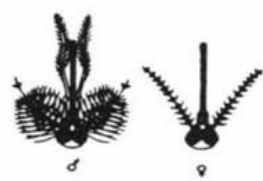
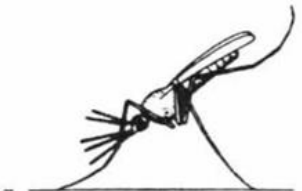

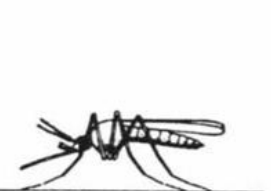
	Anophelinae	Culicinae	
	<i>Anopheles</i>	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>
Œufs			
Larves			
Tête			
Position au repos			

Figure 2 : Différenciation morphologique des Anophelinae des Culicinae d'après Bruce-Chwatt, (1985)

I.2.2. Vecteurs du paludisme

Etymologiquement du grec «a» privatif et de «*Opheles*» c'est à dire utile, les anophèles sont autrement dit des insectes dénués d'utilité (Carnevale & Robert, 2009) et sont groupés au sein de la sous famille des Anophelinae (Figure 1). Insectes diptères, les anophèles femelles sont hématophages (Figure 3) et peuvent transmettre les plasmodies à l'homme lors du repas sanguin, lequel repas est indispensable à la maturation de leurs œufs. Environ 484 espèces sont recensées (Harbach, 2004), parmi lesquelles une soixantaine transmettent le paludisme

(Carnevale & Robert, 2009). Ces vecteurs sévissent principalement en Afrique et en Asie ; mais existent également en Amérique intertropicale et aux Caraïbes (Rey *et al.*, 1994). L'importance des anophèles dans la ceinture tropicale du globe (Figure 4) tient principalement de leur rôle dans la transmission du *Plasmodium* à l'homme. Les espèces du complexe *An. gambiae* et *An. funestus* sont à elles seules responsables de 90% de la transmission du paludisme en Afrique subsaharien (Sinka *et al.*, 2010). Outre la transmission du paludisme, les anophèles peuvent intervenir dans la transmission des arbovirus (le virus O'Nyong Nyong et la fièvre de la vallée du Rift), ainsi que la transmission de *Wuchereria bancrofti*, agent pathogène de la filariose lymphatique (Gillies & DeMeillon, 1968). La position taxonomique des anophèles d'après Knight & Stone (1977) est la suivante :

Embranchement	Arthropoda	(= pattes articulées)
Classe	Insecta	(= corps segmenté en trois parties)
Sous-classe	Pterygota	(= avec des ailes)
Ordre	Diptera	(= avec 2 ailes)
Sous-ordre	Nematocera	(= avec antennes rondes et longues)
Famille	Culicidae	(= moustiques)
Sous-famille	Anophelinae	(= anophèle)
Genre	<i>Anopheles</i>	

De tous les vecteurs du paludisme, le complexe *An. gambiae* est sans doute le groupe de vecteurs le plus redoutable. Ce groupe forme avec d'autres espèces un complexe de vecteurs.



Figure 3 : Anophèle au cours d'un repas de sang (SAM, 2014).

I.2.2.1. Membres du complexe *Anopheles gambiae* et répartition géographique

Plusieurs espèces d'anophèles font partie d'un complexe et sont de ce fait morphologiquement identiques. Elles ne peuvent être séparées que par des techniques de biologie moléculaires. Cependant, les espèces d'un complexe peuvent montrer des différences de par leur comportement, leur distribution, leur isolement reproductif et leur statut vectoriel. Le complexe le plus connu est probablement le complexe *An. gambiae*. Par exemple, *An. arabiensis* bien que faisant partie du complexe *An. gambiae* est inféodé aux zones arides, comparé à *An. gambiae* plus présent en zone humide.

Le complexe *Anopheles gambiae*, composé de huit espèces génétiquement bien différenciées comprend : *An. coluzzii* (anciennement la forme M d'*An. gambiae* s.s.), *An. gambiae* (anciennement la forme S d'*An. gambiae* s.s.), *An. arabiensis* Patton, 1905; *An. quadriannulatus* Theobald, 1911; *An. amharicus* (anciennement appelé *An. quadriannulatus* B Hunt et al., 1988), *An. bwambae* White, 1985; *An. melas* Theobald, 1903; *An. merus* Doenitz, 1902. De ces vecteurs du complexe, *An. gambiae*, *An. coluzzii*. et *An. arabiensis* sont les vecteurs majeurs du paludisme en Afrique; ces trois vecteurs en plus d'*An. melas* sont présents au Cameroun (Antonio-Nkondjio et al., 2006; Bigoga et al., 2007a; Ayala et al., 2009).

Anopheles gambiae et *An. coluzzii* sont présents en zone de forêt, de savane humide et en zone sahélienne (Coluzzi et al., 1979; Robert et al., 1989b; Etang et al., 2016a; Mbida Mbida et al., 2016). Ils sont largement répandus dans les régions intertropicales sauf sur les montagnes où ils sont absents à plus de 1500 m d'altitude (Manga et al., 1992). Les femelles sont essentiellement endophages et endophiles. Toutefois, en fonction des conditions environnementales, elles peuvent devenir zoophiles, exophages et exophiles (Robert et al., 1989b). *Anopheles arabiensis* est présent dans les zones arides (Ayala et al., 2009) mais est également présent dans les régions de savane humide où il coexiste avec *An. gambiae* et *An. coluzzii* (Robert et al., 1989b). *Anopheles arabiensis* est endophage et moins endophile mais plus zoophile qu'*An. gambiae* s.s. (Mouchet et al., 1993).

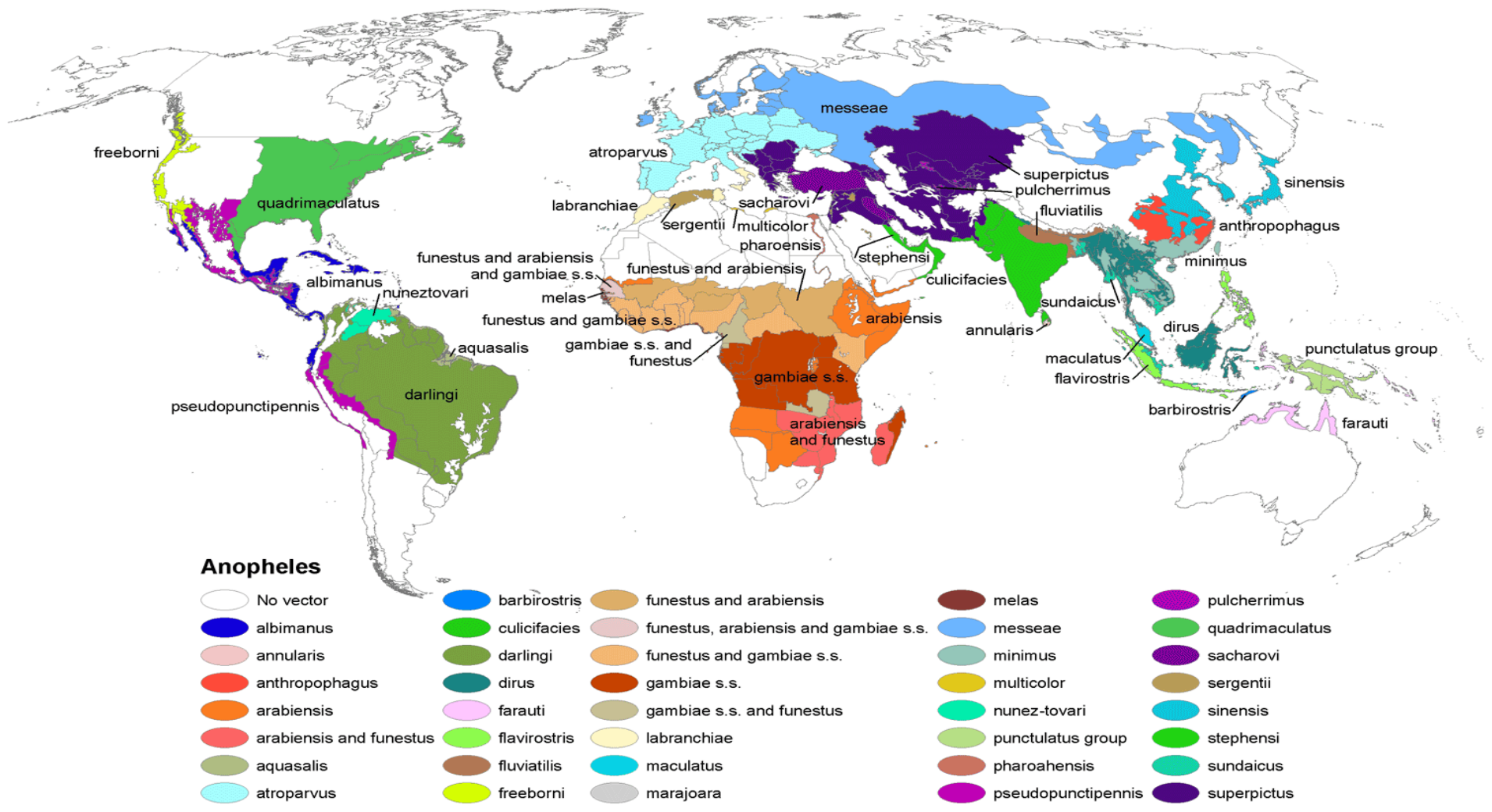


Figure 4 : Distribution mondiale des *Anophèles*. (CDC, 2012).

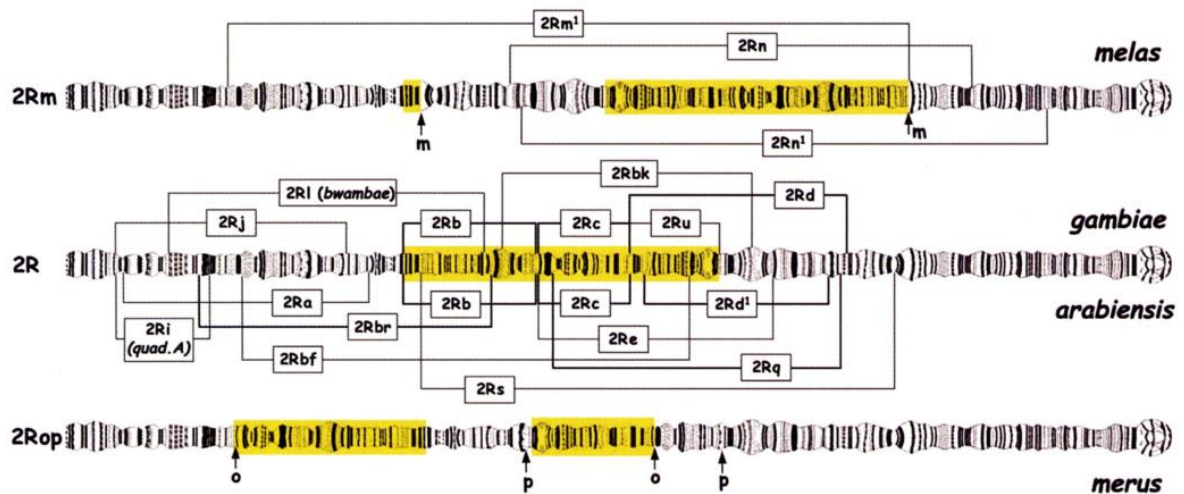
I.2.2.2. Inversions chromosomiques

L'analyse des inversions au niveau des chromosomes polytènes ou chromosome géant permet de différencier les espèces cryptiques (Coluzzi, 1992). Ces chromosomes géants sont issus de la réplication itérative de brins d'ADN qui ne se séparent pas. Chez les moustiques, ces chromosomes géants sont rencontrés dans les oocystes des femelles semi-gravidés. Vu leur taille, ces chromosomes sont visibles en microscopie optique et une coloration y fait apparaître une striation caractéristique. Les bandes correspondent à différents niveaux de condensation de la chromatine, fournissant une carte physique à haute résolution du génome (Cooper, 1999). On peut notamment y repérer des inversions chromosomiques : rotation à 180° d'une portion de chromosome. Ainsi, les chromosomes polytènes utilisés dans les études cytogénétiques peuvent permettre de distinguer les espèces cryptiques d'après le schéma de bandes qu'ils présentent (Figure 5). Chaque espèce possède une combinaison qui lui est caractéristique.



Figure 5 : photographie de chromosome polytène d'*Anopheles gambiae* s.s. (cliché Agbor JP)

Dans le complexe *An. gambiae* s.l. sont présentes des inversions fixées, apparues au cours de la spéciation et qui n'évoluent plus. Ceci permet de caractériser les moustiques de chaque espèce (Figure 6), et donc de différencier les espèces du complexe. Chez *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis*, la plupart des inversions se retrouvent sur le chromosome 2. Ces deux espèces ont en commun six inversions sur le bras droit du chromosome 2. De plus, *An. gambiae* s.s. présente l'inversion polymorphique 2La sur le bras gauche, qui est fixée chez *An. arabiensis*, c'est à dire que tous les moustiques de cette espèce possède cette inversion.

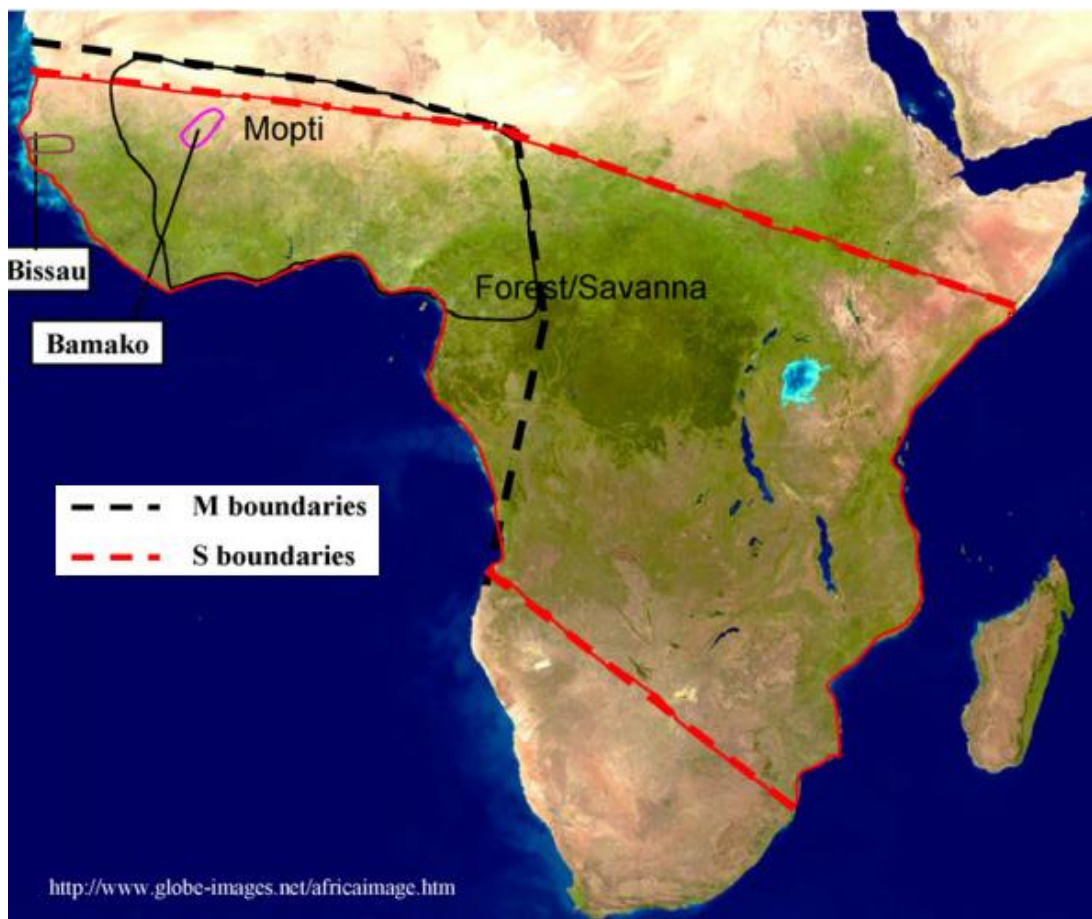


Coluzzi *et al.*, 2002

Figure 6 : Différentes inversions sur le chromosome 2R chez quatre espèces du complexe *An. gambiae*

Les inversions semblent jouer un rôle important dans la spéciation et la différenciation des écotypes, par des mécanismes d'adaptation à l'environnement (Ayala et Coluzzi, 2005). Par exemple, la fréquence de l'inversion 2La est corrélée au degré d'aridité aux niveaux macro-géographique, micro-géographique et temporel (Powell *et al.*, 1999). Cette association entre la fréquence de l'inversion 2La et le degré d'aridité a pu être observée (Wondji *et al.*, 2005). L'inversion chromosomique pourrait également influencer la lutte anti vectorielle. En effet, le polymorphisme de l'inversion 2La pourrait conduire à un changement de comportement des vecteurs, ceux endophile devenant exophile et vice-versa (Molineaux *et al.*, 1980). De plus l'observation de combinaisons caractéristiques d'inversions au sein d'*An. gambiae* s.s., a conduit à la distinction de cinq "formes chromosomiques" nommées Mopti, Bamako, Savanna, Bissau et Forest (Coluzzi *et al.*, 1985). Ces formes présentent des préférences écologiques différentes, mais plusieurs formes sont fréquemment trouvées en sympatrie. La forme Mopti est bien adaptée aux savanes sahéliennes et zones irriguées, tandis que la forme Savanna est plus présente en zone soudanienne (Wondji *et al.*, 2002). Le polymorphisme des inversions chromosomiques entraîne une grande flexibilité écologique, permettant aux vecteurs d'utiliser de manière optimale les conditions diverses rencontrées dans leur aire de distribution. Par exemple, les incursions d'*An. coluzzii* dans les zones sahéliennes et pré-désertiques soulignent une plus grande tolérance à l'aridité. En revanche, si la distribution d'*An. gambiae* s.s. est limitée par le gradient d'aridité, la limite de distribution d'*An. coluzzii* au niveau de l'Afrique Centrale ne correspond pas à une hétérogénéité environnementale claire (Figure 7). D'autres divergences ont été observées

entre ces deux espèces. Les études de la mutation *kdr* conférant la résistance aux insecticides de la classe des pyréthrinoïdes ont permis, outre l'identification des mécanismes de résistance, mais aussi de montrer que certains phénotypes pouvaient différer entre *An. coluzzii* et *An. gambiae* s.s. En effet, les populations d'*An. gambiae* s.s. présentent généralement la mutation à une fréquence bien plus élevée que chez *An. coluzzii* (Santolamazza *et al.*, 2008). Il a été également suggéré que les préférences d'habitats larvaires entre les deux espèces étaient différentes (Diabate *et al.*, 2005) : *An. coluzzii* colonise les gîtes permanents d'origine anthropique tels que les rizières et *An. gambiae* s.s., les gîtes naturels temporaires mis en eau lors des épisodes pluvieux. Il est donc important pour une mise en œuvre efficace de la lutte antivectorielle, d'avoir une connaissance précise de la biologie des principaux vecteurs du paludisme, au niveau écologique, comportemental et génétique.



Représentation schématique des aires de distribution des espèces *An. gambiae* s.s. (forme S) et *An. coluzzii* (formes M) en Afrique Sub-saharienne. Le fond de carte issu de données satellitaires indique les zones de végétation en vert (Source : Lehmann & Diabaté, 2008)

Figure 7 : Aires de distribution des espèces *An. gambiae* (forme S) et *An. coluzzii* (formes M)

I.2.2.3. Identification moléculaire des espèces du complexe *An. gambiae* s.l.

Diverses méthodes d'identification des espèces du complexe *An. gambiae* ont été utilisées, comme les méthodes biochimiques par l'utilisation de l'électrophorèse d'iso-enzymes. L'essor de la PCR a permis de supplanter ces méthodes par des techniques moléculaires basées sur l'analyse de l'ADN. Plusieurs études ont rapidement mis en évidence des polymorphismes de l'ADN ribosomal (ADNr), porté par le chromosome X, permettant d'identifier les espèces du complexe (Collins *et al.*, 1987). En effet, un grand nombre de copies de l'ADNr est présent dans le génome d'*An. gambiae* s.l. au niveau d'un locus unique (Collins *et al.*, 1990). Ces unités, disposées en tandem, comprennent chacune des gènes codant les trois sous-unités ribosomales, deux séquences ITS (Internal Transcribed Spacers), une séquence ETS (External Transcribed Spacer) et une séquence IGS (Intergenic Spacer) (Figure 8). Les séquences ITS et IGS sont non-codantes et présentent des taux de mutation élevés. Celles-ci comportent généralement des mutations spécifiques à chaque espèce (Collins & Paskewitz, 1996) (Figure 9). Situé dans une portion hétérochromatique proche du centromère du chromosome X, le locus est constitué d'un grand nombre de répétitions du motif de base. Ce dernier, d'une taille d'environ 9 kb, comprend les gènes codant les sous-unités 18S, 5,8S et 28S du ribosome, séparés par des régions non codantes (ITS1, ITS2 et IGS).

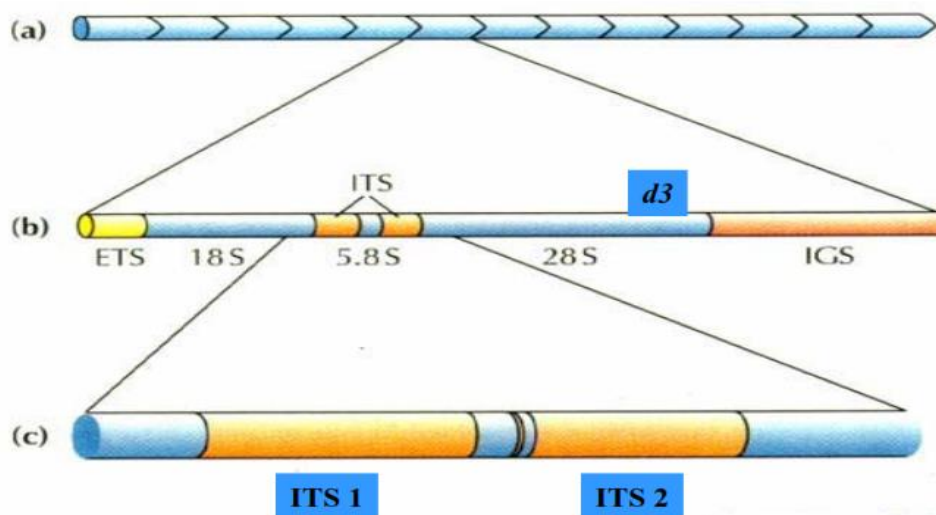


Figure 8 : Schéma de la structure de l'ADN ribosomal chez *An. gambiae* (Source : Gentile *et al.*, (2002)).

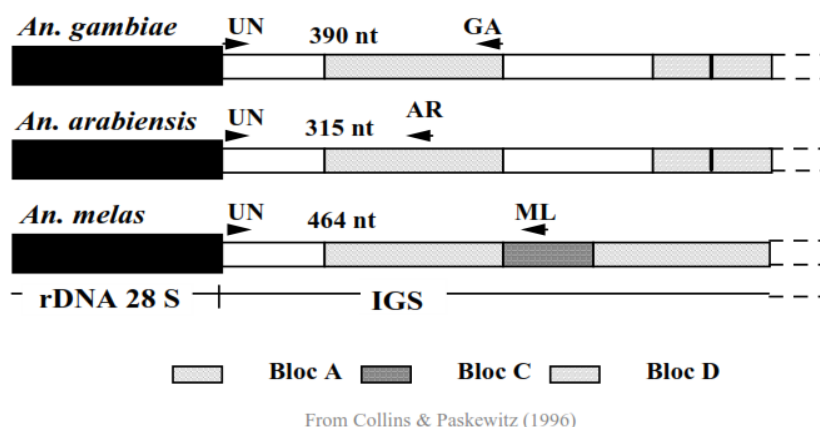


Figure 9 : Mutations spécifiques chez trois espèces du complexe au niveau d'IGS (Source : Collins & Paskewitz, (1996)).

Les variations nucléotidiques de la séquence IGS ont permis la mise au point d'une PCR multiplex de diagnostic des différentes espèces du complexe (Scott *et al.*, 1993). Ces nouveaux outils ont également permis d'étudier *An. gambiae* et *An. coluzzii*. La distinction de la forme chromosomique Mopti des formes Savanna et Bamako a d'abord été rendue possible par la technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR-RFLP) de la séquence IGS (Favia *et al.*, 1997). Puis, l'analyse d'une partie de cette séquence a révélé des substitutions nucléotidiques fixes, ayant permis la mise au point d'une PCR diagnostic séparant la forme Mopti des formes Savanna et Bamako (Favia *et al.*, 2001). Plus tard sera développée de nouveaux marqueurs co-dominants faciles à utiliser pour l'analyse de la différenciation génétique entre les formes M et S (Santolamazza *et al.*, 2008). Une PCR utilisant les SINE (Short INterspersed Elements) qui sont des marqueurs génétiques a été ainsi mis sur pied et est basée sur l'analyse du polymorphisme d'insertion d'un SINE d'environ 200 pb (SINE200) dans des zones génomiques de haute différenciation des formes moléculaires M et S *An. gambiae*.

Une nouvelle nomenclature basée sur les polymorphismes de l'ADNr a introduit la notion de formes moléculaires distinguant les formes moléculaires S (forme chromosomique « Savanna » dans les savanes sèches d'Afrique de l'Ouest) et la forme moléculaire M (forme chromosomique « Mopti ») (della Torre *et al.*, 2001). Depuis 2013, les formes moléculaires M et S sont devenues des espèces à part entière, sous l'appellation d'*Anopheles coluzzii* et *Anopheles gambiae* s.s. respectivement (Coetzee *et al.*, 2013).

I.3. Cycle de développement des anophèles

Le développement de toutes les espèces de moustiques est caractérisé par la succession de deux phases : la première aquatique, va du stade de l'œuf au stade de la nymphe, en passant par le stade larvaire. La seconde phase qui est aérienne concerne l'adulte (Figure 10).

I.3.1. Stade aquatique

Les anophèles femelles pondent sur l'eau des œufs fécondés munis de flotteurs. De chaque œuf écloit une larve. Les larves aquatiques des anophèles se nourrissent en filtrant les débris organiques et les micro-organismes de l'eau. Elles passent par quatre stades larvaires, séparés par trois mues larvaires pour devenir des nymphes. En effet, la larve de quatrième stade effectue une mue particulière (la nymphose) et libère une nymphe aquatique mobile qui ne se nourrit pas (Carnevale & Robert, 2009).



Figure 10 : Cycle biologique d'un anophèle (Source : Knols, 2011)

I.3.2. Stade aérien

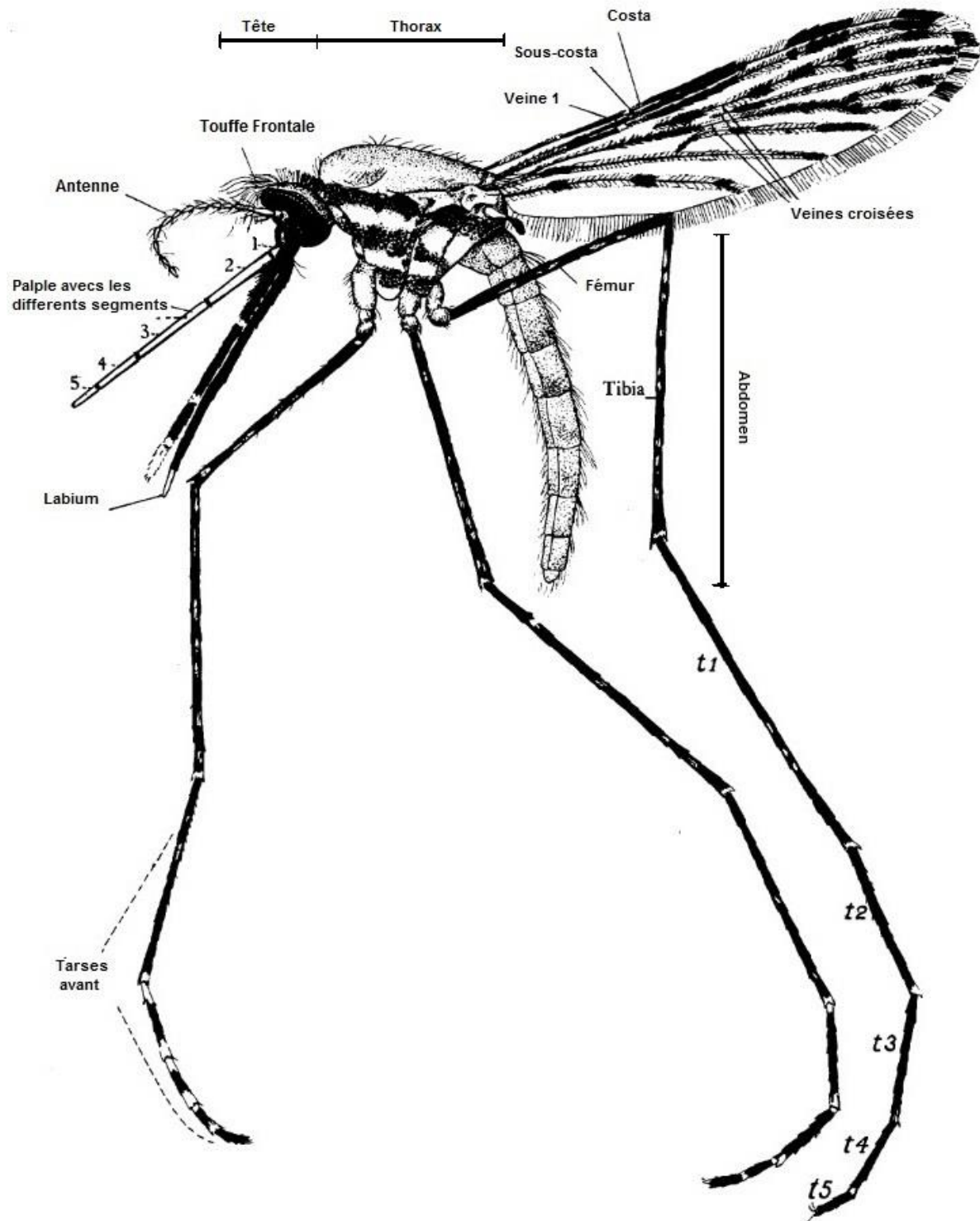
De la nymphe émerge un adulte, mâle ou femelle. C'est au cours de la phase aérienne que le plus souvent, dans un essaim de mâles réunis au crépuscule, s'effectue l'insémination de la femelle imago. Les spermatozoïdes sont introduits dans la bourse copulatrice de la femelle, puis ils migrent dans une spermathèque dans laquelle ils conservent leur pouvoir fécondant pendant plusieurs semaines (Carnevale & Robert, 2009).

I.3.3. Morphologie de l'anophèle adulte

Le moustique adulte comprend trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (Figure 11).

- **La tête** porte deux gros yeux composés, d'une paire d'antennes de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle. La trompe ou proboscis est formée d'une pièce buccale particulière appelée labium qui forme une gouttière souple entourant les autres pièces buccales chez la femelle. Certaines de ces pièces buccales forment deux canaux indépendants. Le plus gros est le canal alimentaire, délimité par le labre replié en gouttière. Le moustique y aspire le sang de l'hôte. Le plus fin est le canal salivaire : la salive est injectée dans ce canal et circule depuis les glandes salivaires du moustique jusqu'à l'extrémité la plus avancée du point de piqûre dans l'hôte. Ces caractéristiques morphologiques permettent dans le même temps à l'anophèle femelle, lors de la piqûre, d'ingérer un volumineux repas sanguin et d'injecter avec sa salive le stade infectant (sporozoïte) du *Plasmodium*. Deux palpes maxillaires sont situés de part et d'autre de la trompe. Chez la femelle, ils sont de la même taille que la trompe tandis que chez le mâle, ils sont plus longs.

- **Le thorax** est formé de trois segments portant chacun une paire de pattes. Le premier segment réduit et le second très développé renferme de puissants muscles alaires sur lesquels s'insèrent une paire d'ailes. Sur le troisième segment est placée une paire d'haltère qui joue un rôle dans l'équilibration du vol. Les six pattes longues et minces sont formées de neuf articles. Les ailes présentent de nombreuses écailles claires et sombres dont les arrangements sur le rebord costal sont caractéristiques des *Anophèles* (Gillies & de Meillon, 1968).



Vue de profil de l'anophèle entier montrant les principales parties du corps. Un palpe érigé et dénudé d'écaïlle pour montrer les différents segments. Les tarse t1 à t5 sont celles de la patte antérieure.

Figure 11 : Morphologie d'un anophèle femelle adulte (Source : Gillies & de Meillon, 1968).

- **L'abdomen** est constitué de dix segments dont sept sont bien visibles. Chaque segment (constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale) est reliée par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de la prise d'un repas de sang et lors de la ponte. Les trois derniers segments portent l'anus et les appendices génitaux (Gillies & de Meillon, 1968).

L'ensemble trompe-tête-thorax-abdomen est dans le même alignement. Au repos, cet alignement détermine par rapport au support un angle aigu caractéristique des anophèles (Figure 2). Les palpes, les pattes postérieures et les ailes sont quelques parties de l'*Anopheles* aidant à son identification morphologique. Les espèces membres d'un complexe ne sont pas différenciables par ces caractéristiques morphologiques.

I.4. Bio écologie des anophèles

I.4.1. Bio écologie des larves

La phase aquatique a une durée variable selon les espèces et les conditions de température. En zones tropicales, cette phase chez les anophèles dure de 1 à 3 semaines et plusieurs semaines en zones tempérées, du fait de l'hibernation de certaines espèces comme *An. claviger* (Kasap, 1986). Les stades immatures (larves et nymphes) vivent dans l'eau mais ont une respiration aérienne. Cette particularité biologique est utilisée dans certaines stratégies de lutte anti larvaire qui ayant pour but d'empêcher les larves et les nymphes d'atteindre la surface de l'eau et de respirer, ce qui entraîne alors leur asphyxie.

Les gîtes larvaires des anophèles sont très variés. Ils peuvent se développer dans les eaux douces (*An. gambiae*) ou saumâtres (*An. melas* et *An. merus*) en Afrique Sub-saharienne et Occidentale respectivement. En Afrique Tropicale, *An. gambiae* et *An. arabiensis* ont une prédilection pour les flaques d'eaux temporaires ensoleillées ou flaques résiduelles dans le lit des rivières relativement permanentes comme les rizières. Ils peuvent également se développer dans les eaux stagnantes (*An. gambiae* s.l., *An. funestus*) ou le long des rivières (*An. moucheti*, *An. nili*,) (Carnevale & Robert, 2009). Certaines espèces d'anophèles sont associées à certaines formations végétales et d'autres apparaissent à la suite des changements des conditions environnementales. Dans les villages de la zone forestière du Sud-Cameroun installés le long de la rivière Sanaga, une transmission permanente du paludisme est assurée par *An. nili* dont les larves se développent près des berges au milieu de la végétation dressée (Mouchet, 1962). Dans le village de Bambalang (Nord-Ouest), la construction du barrage de retenue de Bamendjim a créé de gîtes permanents favorables au développement d'*An. ziemanni* (Tabue *et al.*, 2014).

Dans un même milieu écologique, des espèces peuvent cohabiter ou se succéder tout au long de l'année. Il a été observé en Afrique de l'Ouest qu'en fonction de l'évolution du riz, les rizières peuvent héberger successivement des larves d'*An. gambiae*, puis d'*An. pharoensis* et d'*An. coustani* (lors de la récolte) (Robert *et al.*, 1989a). De même au Mali, les larves d'*An. gambiae* s.s. sont surtout présentes dans les six semaines suivant le repiquage du riz, puis d'autres espèces anophéliennes se développent au fur et à mesure de la montaison et la maturation du riz, alors que de moins en moins de lumière atteint la lame d'eau (Klinkenberg *et al.*, 2003).

De façon générale, les larves d'anophèles se développent dans des eaux relativement propres contrairement aux larves de *Culex* qui peuvent se développer dans des eaux souillées et sont de ce fait abondantes dans les zones urbaines où l'hygiène n'est pas assurée. Toutefois, des larves d'*An. gambiae* ont pu être récoltées dans des drains pollués en zones urbaines (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011).

I.4.2. Bio écologie des adultes

Les mâles et femelles d'anophèles se nourrissent de jus sucrés, nectars et autres exsudats végétaux. Le mâle est incapable de perforer la peau d'un vertébré contrairement à la femelle qui est pourvue de deux maxilles latérales, principaux organes perforants à leur extrémité pour percer l'épiderme et le derme, puis la paroi du canal sanguin. La femelle est de ce fait seule à être hématophage : un repas de sang n'est pas indispensable à sa survie, mais il l'est à la maturation ovarienne. La femelle de la plupart des espèces d'anophèles prend son repas sanguin sur des animaux à sang chaud, surtout des mammifères, mais certaines espèces piquent exclusivement soit les humains (anophèles anthropophages) soit les animaux (anophèles zoophages). Le degré d'anthropophilie ou de zoophilie varie en fonction de l'espèce. L'une des raisons pour laquelle *An. gambiae* est un excellent vecteur du paludisme est son degré d'anthropophilie élevé (Coluzzi *et al.*, 1979).

La température influence fortement la durée de la phase pré-imaginale. Cette phase s'allonge quand la température diminue et raccourcit quand elle augmente. A la température de 30°C et 25°C, cette phase a une durée de cinq et une dizaine de jours respectivement pour *An. gambiae*. La longévité des anophèles femelles adultes varie de 20 à 30 jours dans les conditions naturelles, et la dispersion moyenne en vol à partir des gîtes larvaires est de l'ordre de 1 km à 1,6 km et peut aller à plus de 2 km (Service, 2012). En effet, les conditions environnementales (le vent) et les barrières physiques (les montagnes et les arbres) peuvent influencer la distance de vol du moustique par rapport à son gîte larvaire (Midega *et al.*, 2012). La densité des

moustiques, leur diversité et leur croissance sont liées aux conditions climatiques. Pendant la saison sèche, ces conditions deviennent défavorables, entraînant une baisse de la population anophélienne. Cependant, les changements environnementaux liés aux activités humaines créent des gîtes quasi permanents susceptibles d'entretenir la prolifération des moustiques même dans des conditions climatiques rudes.

I.4.2.1. Cycle trophogonique des anophèles

La bio écologie de l'anophèle femelle est marquée par le comportement de piqûre et de reproduction. Cette succession d'évènements chez la femelle s'inscrit dans le «cycle trophogonique ou gonotrophique». Le cycle trophogonique est donc la succession des phénomènes physiologiques qui se produisent chez le moustique entre deux repas de sang successifs. Il est de durée différente chez les femelles qui n'ont jamais pondu (femelle « nullipares ») ou qui ont déjà effectué au moins une oviposition (femelle « pares »). Généralement, il dure de 4 à 5 jours pour le premier cycle et de 2 à 3 jours pour les cycles suivants (Gillies, 1953; Carnevale *et al.*, 1979). Trois phases sont distinguées dans ce cycle trophogonique : la recherche de l'hôte et sa piqûre par la femelle à jeun, la digestion du sang qui se déroule dans le même temps que la maturation ovarienne et la recherche du lieu de ponte de la femelle gravide (Beklemishev, 1940).

i) Recherche de l'hôte et piqûre

La femelle à jeun se met de nuit à la recherche d'un hôte à piquer. Des facteurs d'attractivité ou des stimuli olfactifs tels que des phéromones spécifiques des espèces animales (ou humaines), le gaz carbonique émis par la respiration à moyenne distance, la chaleur de l'hôte, l'humidité corporelle et divers facteurs visuels et d'autres attractifs jouent un rôle important dans la localisation de l'hôte (Njiru *et al.*, 2006). Des études montrent notamment que les moustiques sont significativement plus attirés par les femmes enceintes, suggérant le rôle hormonal dans l'attractivité (Ansell *et al.*, 2002). La vision intervient également dans l'activation et l'orientation des moustiques. Ils sont attirés particulièrement par le bleu, le rouge et le noir, et repoussés par le blanc ou le jaune (Carnevale & Robert, 2009).

La piqûre d'un anophèle survient généralement pendant la nuit. Les moustiques pares sont ceux susceptibles de transmettre les parasites à l'homme. Lors de la piqûre, le sang est ingéré par pompage après la création d'une canule directement dans un capillaire sanguin. La salive

est éjectée pendant toute la durée de la piqûre, jusqu'à la réplétion complète de l'estomac (Carnevale & Robert, 2009).

ii) *Digestion du sang et maturation ovarienne*

Dès la fin du repas, commence la digestion du sang. Les anophèles nullipares ont parfois besoin de deux repas de sang pour achever le développement ovarien. La digestion du sang et la maturation des ovaires s'effectuent dans un lieu de repos qui peut être à l'intérieur ou à l'extérieur des sites d'alimentation selon que l'anophèle soit endophile ou exophile. Après la digestion du sang, la femelle gorgée devient « semi-gravide » puis « gravide » (Figure 12).

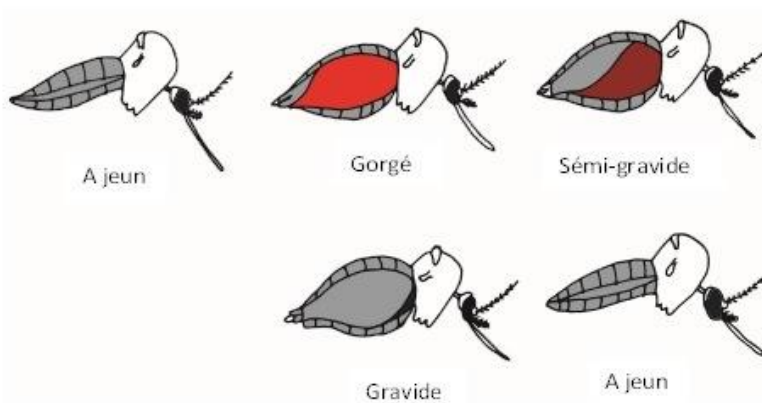


Figure 12 : Variation de l'état de réplétion de l'anophèle femelle durant le cycle trophogonique (Source : Service, 2012)

Le sang est absorbé par le canal alimentaire puis passe par l'œsophage et entre dans l'intestin moyen (estomac) où se font la digestion et l'absorption. Le bol alimentaire est rapidement entouré d'une membrane péritrophique sécrétée par l'épithélium stomacal. Cette membrane chitineuse est composée de protéines et de lipides. Absente chez l'insecte à jeun, il n'est produit qu'après la prise du repas de sang. La présence de cette membrane autour du bol alimentaire est d'une grande importance dans les relations vecteur-*Plasmodium* (Billingsley & Rudin, 1992) car l'oocinète doit produire certaines chitinases pour la traverser, première étape incontournable pour quitter l'estomac (Beier, 1998). Dans le bol alimentaire, la lyse des hématies s'opère par une série de facteurs physiques et chimiques. La présence du sang dans l'estomac entraîne la sécrétion de nombreuses enzymes digestives (Billingsley, 1990). Cette sécrétion d'enzyme cesse lorsque le sang est entièrement digéré. En Afrique sub-saharienne, chez les vecteurs majeurs du paludisme comme *An. gambiae* s.l. et *An. funestus*, cette digestion-maturation s'accomplit en quelque 35 à 40 heures.

iii) Recherche du lieu de ponte

Dès que les œufs sont matures, la femelle se met en quête de gîtes favorables à la ponte. Une fois cette dernière achevée, débute alors un nouveau cycle. La durée du cycle trophogonique varie entre deux et trois jours pour les femelles pares, suivant les espèces et les saisons. Pour les nullipares, il est plus long et va jusqu'à cinq jours.

I.4.2.2. Compétence et capacité vectorielle des anophèles vecteurs

Le fonctionnement d'un système vectoriel dans les conditions naturelles requiert une bioécologie favorable à la transmission. En d'autres termes, le vecteur doit être compétent et avoir une capacité vectorielle élevée. Par définition, la capacité vectorielle est l'ensemble de facteurs extrinsèques (facteurs anthropiques, environnementaux et climatiques). Elle dépend de la répartition, de la longévité et de l'abondance des vecteurs, ainsi que du contact entre le vecteur et l'hôte vertébré. C'est donc la faculté du vecteur à transmettre effectivement l'agent pathogène à un hôte. Cette capacité vectorielle dépend de la compétence des vecteurs qui est un facteur intrinsèque, sous contrôle génétique (préférences trophiques, comportement du vecteur et sa capacité à s'infecter et à assurer le développement du pathogène). C'est donc la capacité du vecteur à s'infecter, à assurer le développement du pathogène et à le transmettre (MacDonald, 1957).

The diagram shows the equation $R_0 = \frac{ma \cdot a \cdot p^n}{-\ln p} \times b \times \frac{1}{r}$ on a blue background. A red circle highlights the fraction $\frac{ma \cdot a \cdot p^n}{-\ln p}$. An arrow labeled 'Capacité vectorielle' points to this circled fraction. Another arrow labeled 'Compétence vectorielle' points to the term $b \times \frac{1}{r}$.

R₀ : Taux de reproduction de base (Nombre de nouveaux cas attendus à partir d'un cas)

ma : Taux d'agressivité (Nombre de piqûres / 24h)

a : Nombre de repas pris sur homme / 24h par un moustique

p : Taux quotidien de survie d'une population

n : Durée du cycle extrinsèque du parasite

b : Compétence vectorielle (proportion de piqûres infectées réellement infectantes)

r : Taux de négativation de l'hôte (**1/r**: Durée de la période infectieuse pour les moustiques)

I.5. Parasites et cycle biologique

Cinq espèces plasmodiales sont susceptibles de causer le paludisme à l'homme. Ces espèces ont un cycle de développement chez l'homme et chez le moustique.

I.5.1. Différentes espèces de *Plasmodium*

L'agent pathogène du paludisme, *Plasmodium*, est un protozoaire appartenant à la classe des Sporozoa, à l'ordre des Haemosporinae et à la famille des Plasmodidae. Hématozoaire hématophage, les plasmodies sont des parasites intracellulaires des vertébrés dont l'homme. La transmission à l'homme se fait par certains moustiques femelles du genre *Anopheles*. Ces plasmodies sont très polymorphes au cours de leur cycle biologique, allant de la petite cellule ovoïde de 1,5 à 2µm de long aux cellules fusiformes de 15 à 20µm de long. Plus de 140 espèces sont décrites mais cinq (Annexe 7) d'entre elles sont responsables de la transmission du paludisme humain (Buffaz *et al.*, 2014) :

- ***Plasmodium falciparum* Welch, 1887** : c'est l'agent responsable des fièvres tierces malignes et l'espèce la plus répandue en Afrique Subsaharienne où il est le plus prédominant et le plus mortel. Il est responsable de plus de 90% des cas (Mouchet *et al.*, 2004).
- ***Plasmodium vivax* Grassi et Feletti, 1890** : l'une des espèces les plus répandues, elle est responsable des fièvres tierces bénignes. Retrouvé principalement en Asie, il est plus répandu que *P. falciparum*. Bien qu'il soit largement distribué, les risques d'infections palustres dues à cette espèce sont considérablement réduits en Afrique, ceci à cause de la quasi absence du gène Duffy au sein de la population. Ce gène code pour une protéine s'exprimant à la surface des globules rouges et est indispensable à la fixation et la pénétration de *P. vivax*. Toutefois, des études menées au Kenya (Ryan *et al.*, 2006), à Madagascar (Ménard *et al.*, 2010), en Angola et en Guinée Equatoriale (Mendes *et al.*, 2011) ont montré que *P. vivax* infectait des personnes Duffy-négatif. L'autre particularité de cette espèce est son stade latent dans le foie (hypnozoïte) qui lui permet de survivre et de causer la maladie en absence de transmission.
- ***Plasmodium ovale* Stephens, 1922** : sa particularité est qu'il ovalise les hématies qu'il infecte. Très proche biologiquement et morphologiquement de *P. vivax*, il remplace ce dernier en Afrique noire (Danis *et al.*, 2011).

- ***Plasmodium malariae* Laveran, 1881** : Il sévit en Afrique sub-saharienne avec une distribution géographique clairsemée et est responsable des fièvres quartes et de quelques rares cas de décès chaque année.
- ***Plasmodium knowlesi*** : longtemps considéré comme une espèce spécifique des macaques d'Asie du Sud-est, l'infection chez l'homme a été décrite (Singh *et al.*, 2004 ; Cox-Singh *et al.*, 2008 ; Cox-Singh & Singh, 2008; White, 2008), faisant d'elle la cinquième espèce plasmodiale humaine. De toutes les espèces plasmodiales infectant l'homme, *P. knowlesi* est celui ayant le cycle érythrocytaire le plus court, soit 24h, alors que celui de *P. falciparum*, *P. vivax*, et *P. ovale* est approximativement de 48 h et de 72 h pour *P. malariae* (Garnham, 1966). Il sévit dans la péninsule Malaisienne (Cox-Singh *et al.*, 2008) et peut induire des accès graves avec des complications pouvant conduire à des cas de mortalité.

I.5.2. Cycle parasitaire du *Plasmodium*

Le cycle biologique de *Plasmodium* peut être caractérisé par deux phases (Figure 13) :

- Une phase de prolifération chez l'homme par multiplication asexuée, appelée schizogonie. Cette phase se déroule à deux niveaux différents chez l'homme et de manière chronologique : d'abord au sein des hépatocytes dans le foie (cycle exo érythrocytaire, cycle A), puis dans les érythrocytes circulants (cycle érythrocytaire, cycle B).
- Une phase de différenciation sexuée suivie d'une multiplication asexuée, appelée sporogonie (Cycle C), qui commence chez l'homme par la production de gamétocytes mâles et femelles (gamétocytogénèse). Cette phase se poursuit chez le moustique par la maturation des gamétocytes en gamètes mâles et femelles, marquant la fin du cycle sexué (Figure 13).

I.5.2.1. Cycle schizogonique dans l'hôte humain

a) Cycle schizogonique exo-érythrocytaire

La schizogonie commence chez l'homme par l'injection sous-cutanée de sporozoïtes contenus dans la salive du moustique lors du repas de sang. Les sporozoïtes injectés dans la peau pendant la pénétration des pièces buccales (c'est-à-dire avant le prise de sang) semblent les seuls à pouvoir parvenir dans le foie de l'hôte. Les sporozoïtes injectés dans le vaisseau sanguin pendant le repas de sang sont sans avenir pour le cycle parasitaire, car ils sont aussitôt ré-ingérés par le moustique dans son repas (Carnevale & Robert, 2009). Les parasites entrent alors dans la circulation sanguine et migrent rapidement vers le foie. Les sporozoïtes seraient

capables de migrer à travers plusieurs hépatocytes avant de finalement commencer leur développement (Mota *et al.*, 2001). Au début de la cascade de différenciation, le sporozoïte nouvellement entré dans l'hépatocyte est désassemblé sous 24 heures (Frevert, 2004) afin de former le trophozoïte hépatique. Le parasite commence ensuite une division cellulaire qui conduit à la production d'un schizonte hépatique dépassant la taille originelle de l'hépatocyte et composé de milliers de mérozoïtes, forme infectieuse pour les érythrocytes. Après rupture de la membrane du schizonte et de la membrane plasmique de l'hépatocyte, les mérozoïtes sont libérés dans la circulation sanguine où ils débute le cycle érythrocytaire.

b) Cycle schizogonique érythrocytaire

Ce cycle dure environ 48 h chez *P. falciparum*. Il commence par l'invasion d'un érythrocyte sain par un mérozoïte. Adapté pour l'invasion de l'érythrocyte, les mérozoïtes disposent d'un pôle apical qui contient des vésicules de sécrétion produisant des granules denses. La libération du contenu de ces granules pendant le processus d'invasion entraîne le changement de composition de la membrane de l'érythrocyte (Chitnis & Blackman, 2000). Après l'invasion, le parasite commence à modifier le contenu et la structure de l'érythrocyte. Il se nourrit des constituants de l'érythrocyte tels que l'hémoglobine. L'hème résultant de ce catabolisme va être transformée en cristaux d'hémozoïne. Par la suite, le parasite continue son développement et son volume augmente pour se transformer en trophozoïte. Cette forme du cycle érythrocytaire est caractérisée par une augmentation du transport des protéines parasitaires à la surface de l'érythrocyte. L'espace occupé par le trophozoïte dans le cytosol augmente à mesure que la surface de la vacuole digestive s'accroît. Le schizonte est l'ultime phase de développement du parasite au sein de l'érythrocyte qui aboutit à la formation des mérozoïtes. Finalement, la membrane de l'érythrocyte est brisée libérant les mérozoïtes et permettant d'amorcer un nouveau cycle érythrocytaire asexué.

c) Gamétocytogénèse

La gamétocytogénèse est un processus qui conduit une partie des parasites à arrêter leur prolifération asexuée et à initier une différenciation sexuée. Pendant le cycle érythrocytaire, une partie des parasites sort du cycle érythrocytaire asexué pour devenir des gamétocytes, seules formes infectieuses pour le moustique. Les gamétocytes mâles et femelles subissent une maturation permettant la préparation du cycle sexué chez le moustique.

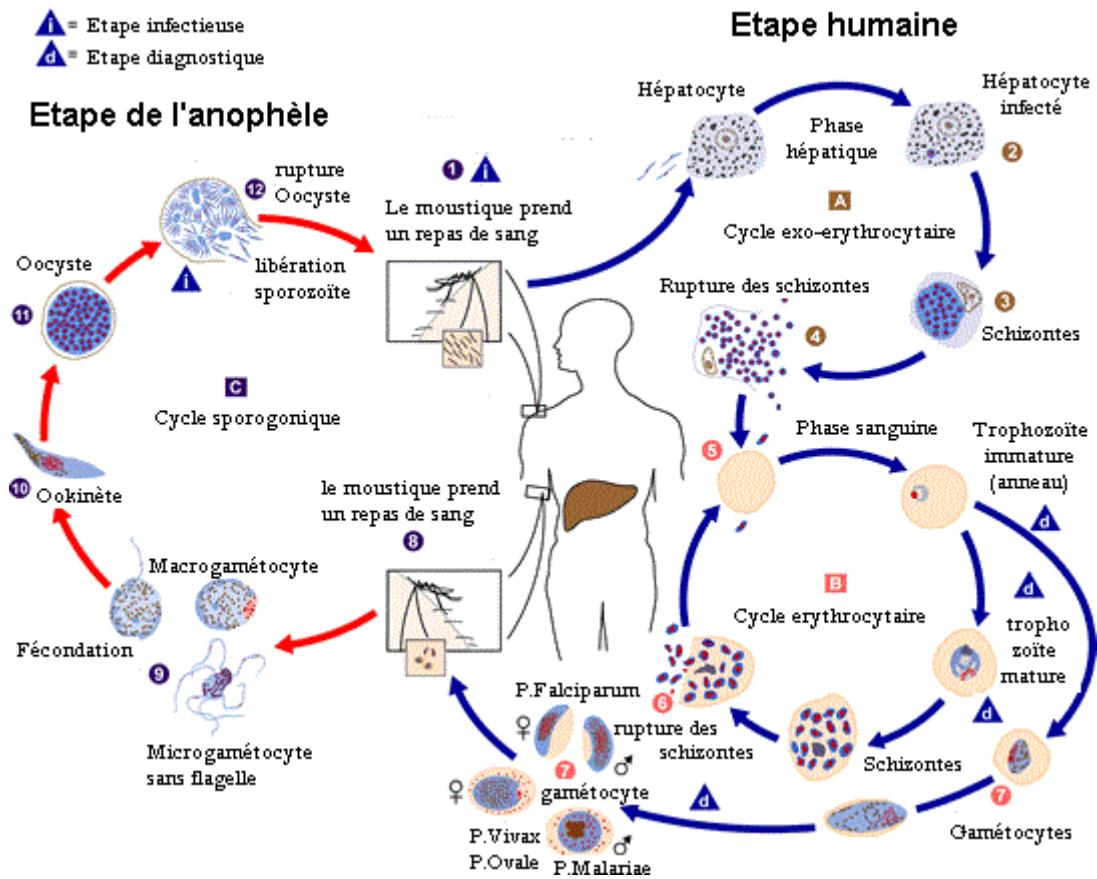


Figure 13 : Cycle de vie du parasite du paludisme (Source : CDC, 2017)

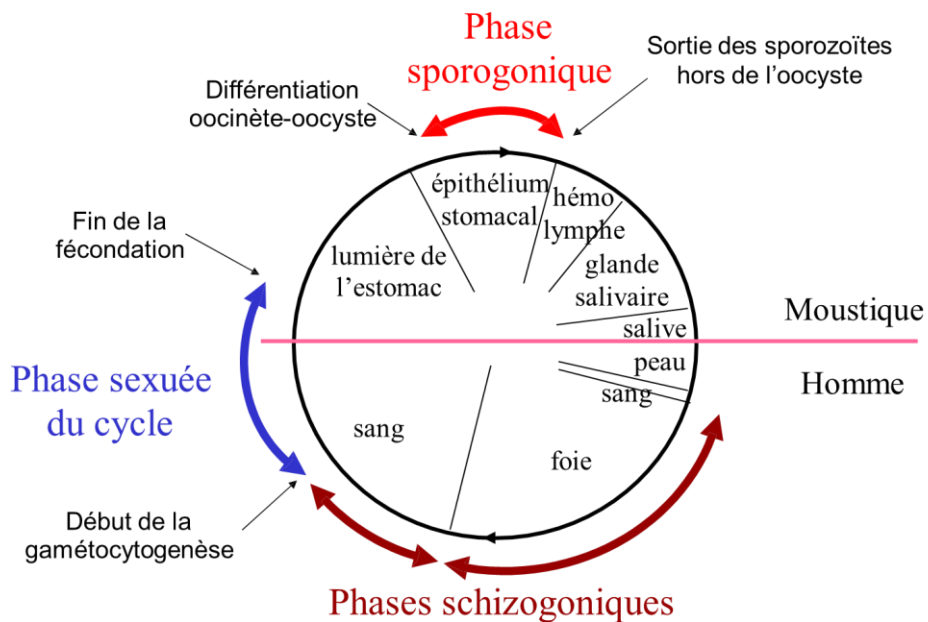


Figure 14 : Les grandes phases du cycle de développement du *Plasmodium*, Adapté de Vincent Robert (Cour d'entomologie médicale, 2008)

I.5.2.2. Stade sporogonique chez le moustique

Lors d'un repas sanguin chez un sujet infecté, le moustique ingère des érythrocytes parasités. Une fois dans l'intestin du moustique, les gamétocytes se différencient en gamètes mâles et femelles et lysent l'érythrocyte dans lequel ils résident. Une fois hors de la cellule hôte, les macrogamètes (femelles) sont prêts pour être fertilisés, tandis que les microgamètes (mâles) entrent en division cellulaire aboutissant à l'exflagellation. La fertilisation du macrogamète par un microgamète est réalisée après l'exflagellation. Le zygote ainsi formé est capable de se différencier après une étape de méiose en ookinète (Figure 13, cycle C), forme invasive pour l'intestin du moustique. A ce stade de développement, l'ookinète traverse l'épithélium intestinal du moustique et se différencie en oocyste (Figure 13, cycle C). Tous les éléments sont alors produits et assemblés afin de former des sporozoïtes qui sont libérés de l'oocyste. Ils migrent ensuite dans l'épithélium intestinal où ils sont transportés par le flux de l'hémolymphes jusqu'aux glandes salivaires (Rodriguez & de la C Hernández-Hernández, 2004). L'ensemble de ces événements depuis la production du sporozoïte dans l'oocyste jusqu'à son arrivée dans le conduit salivaire entraîne une maturation qui permet de le rendre infectieux. Le cycle est bouclé lors du repas sanguin du moustique avec une injection sous-cutanée de sporozoïtes.

I.6. Epidémiologie du paludisme au Cameroun

Le paludisme reste un problème majeur de santé publique au Cameroun. Les conditions climatiques particulières sont favorables au développement des vecteurs et *P. falciparum* est l'espèce plasmodiale la plus fréquente. C'est ainsi que l'on distingue trois principaux faciès épidémiologiques liés aux variations géo climatiques (Figure 15) :

- **Le faciès sahélien**

Il est rencontré dans la zone sahélienne de la région de l'Extrême-Nord du pays et est caractérisé par une transmission saisonnière courte donnant lieu à des épidémies. La prémunition palustre étant tardive dans la population, les épidémies lorsqu'elles surviennent, entraînent de nombreux décès. Dans ce faciès, un habitant est susceptible de recevoir moins de 100 piqûres infectantes durant l'année.

- **Le faciès tropical / soudanien**

Ce faciès correspondant à la zone de savane s'étend de la Région de l'Adamaoua à la Région du Nord, et la transmission y est longue et saisonnière. L'exposition aux piqûres

d'anophèles y est plus importante, la prémunition survenant plutôt en comparaison au faciès sahélien. Le Taux d'Inoculation Entomologique (TIE) est autour de 100 à 300 piqûres infectantes par habitant et par an.

- **Faciès équatorial**

Ce faciès couvre la zone de forêt rencontrée au Sud du pays. La transmission y est pérenne et la prémunition plus précoce que dans les deux autres faciès. Un individu est susceptible de recevoir plus de 300 piqûres infectantes chaque année.

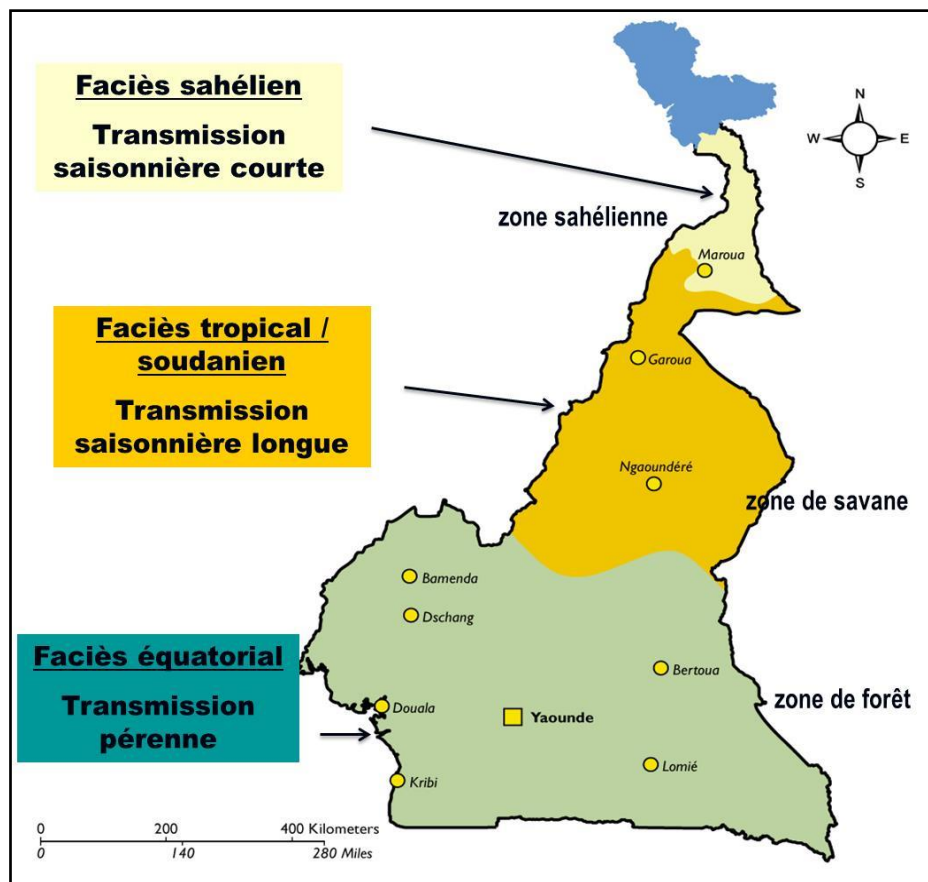


Figure 15 : Faciès épidémiologique du paludisme au Cameroun (Source PNLN 2010, Cameroun)

L'endémicité du paludisme est fonction de sa prévalence au sein de la population. C'est ainsi que l'on distingue des zones d'hyperendémie avec une prévalence supérieure à 50%, de mésoendémie avec une prévalence comprise entre 11 et 50%, et d'hypoendémie avec une prévalence inférieure à 10% (Snow *et al.*, 2005). L'intensité de la transmission peut être aussi évaluée à partir du nombre de piqûres infectantes reçues par l'homme dans un intervalle de temps défini. Bien qu'il n'existe pas de classification des zones endémiques à partir du Taux

d'Inoculation Entomologique (TIE), il existe néanmoins une relation étroite entre l'intensité de la transmission et le taux d'endémicité (Killeen *et al.*, 2000) :

- Hypo-endémicité : TIE inférieure à 10 piqûres infectantes/homme/an
- Méso-endémicité : TIE compris entre 10 et 50 piqûres infectantes/homme/an
- Hyper-endémicité : TIE compris entre 50 et 100 piqûres infectantes/homme/an
- Holo-endémicité : TIE supérieure à 100 piqûres infectantes/homme/an

I.6.1. Diagnostic du paludisme

Le diagnostic du paludisme est un volet important dans la prise en charge correcte des patients. Aussi a-t-on développé diverses techniques afin de répondre à cet impératif. Le diagnostic présomptif bien que non-spécifique est basé sur les signes cliniques et symptômes, le plus important étant la fièvre. Pour la prise en charge des patients, le paludisme est principalement classé en simple (peu compliqué) ou sévère (compliqué) :

- paludisme simple, défini par l'absence des critères de sévérité. Il est caractérisé par une fièvre avec une température axillaire $>37.5^{\circ}\text{C}$, le mal de tête, les douleurs articulaires et les désordres digestifs (nausée, vomissement et diarrhée).
- paludisme sévère, défini par la présence d'un ou de plusieurs critères de sévérités, quelques-uns étant para-cliniques (Olaleye *et al.*, 1998) à savoir l'anémie, l'épilepsie, les atteintes cérébrales, une hypoglycémie, l'avortement, les infections congénitales.

I.6.1.1. Diagnostic biologique

a) Diagnostic microscopique (frottis sanguin et goutte épaisse)

L'examen microscopique (frottis sanguin et goutte épaisse) est la technique de référence préconisée par l'OMS (WHO, 2000). Ce sont des examens peu coûteux en moyens et en réactifs. Le frottis est un étalement mince monocellulaire séché. Il permet une identification précise de l'espèce plasmodiale. Quant à la goutte épaisse (GE), elle est une technique de concentration des plasmodies, plus sensible que le frottis. La goutte de sang est étalée sur un centimètre carré environ pour sa défibrination puis elle est séchée, ensuite déshémoglobinisée par de l'eau neutre. Cette goutte est après colorée par le Giemsa, de même que le frottis. Il s'agit de la plus ancienne méthode de diagnostic biologique du paludisme. Dans l'ensemble, cette technique présente comme avantages principaux la simplicité de sa réalisation, le fait

qu'elle soit largement connue y compris dans les laboratoires non spécialisés. Ce type d'examen permet une évaluation quantitative de la parasitémie, un diagnostic exact de l'espèce plasmodiale et des stades évolutifs. Ceci peut avoir une importance considérable sur le plan épidémiologique mais aussi clinique et thérapeutique. En contrepartie de ces avantages, les examens microscopiques ont quelques inconvénients, le principal concernant la relative longueur de l'apprentissage, surtout pour l'examen de la goutte épaisse. De plus, ses performances en matière de sensibilité et de fiabilité dépendent directement de l'expérience du microscopiste et du niveau de la parasitémie du sujet infecté (Makler *et al.*, 1998).

b) Quantitative Buffy Coat (QBC)

Le principe de cette technique microscopique de fluorescence repose sur l'utilisation d'un fluorochrome (l'acridine orange) capable de se fixer sur le noyau du parasite. La recherche du *Plasmodium* se fait dans 50µL de sang recueillis dans un tube à hématocrite, après concentration par centrifugation et lecture au microscope à fluorescence (Lecamus & Raphenon, 1992). La sensibilité de cette technique serait comparable à celle de la GE pour des infections supérieures à 100 parasites/µL. La spécificité pour *P. falciparum* est élevée (93-98%) mais chute à environ 50% pour les infections causées par les autres espèces. Le QBC pour le test du paludisme est d'apprentissage facile et de réalisation rapides; il constitue actuellement le meilleur test de dépistage pour des biologistes non spécialisés et pour les structures traitant un grand nombre d'échantillons de *Plasmodium*. Malheureusement, son emploi nécessite un matériel et des réactifs coûteux ce qui limite son utilisation. Il ne permet pas non plus le diagnostic d'espèce et le calcul de la parasitémie (Lecamus & Raphenon, 1992).

I.6.1.2. Diagnostic immunologique

Il est généralement basé sur les méthodes immuno chromatographiques. La présence de *Plasmodium* dans le sang provoque la formation d'anticorps dirigés contre les antigènes du parasite et on peut titrer le complexe antigène-anticorps par immunoélectrophorèse (Jelinek *et al.*, 1996). Ces dernières années ont vu paraître les Tests de Diagnostic Rapide (TDR) fondés sur les tests immuno chromatographiques du sang complet pour le diagnostic du paludisme. Ces méthodes reposent sur le principe de la détection de la protéine *Histidin Rich Protein* (HRP-2) ou de l'enzyme Lactate Déshydrogénase du *Plasmodium* (pLDH) présente dans les infections palustres (Hance *et al.*, 2005). Les TDR sont simples, prêt à l'usage, n'exigent pas un matériel de laboratoire spécial. Ils sont en revanche seulement qualitatifs et ont des limites

à savoir : les faux négatifs qui sont dus à une faible parasitémie de l'ordre de 100 parasites par μL , soit 0,002% d'hématies infectées et les faux positifs, moins bien connus, qui sont dus à une lecture trop tardive après le dépôt des réactifs, les TDR restant positifs à cause de la persistance des anticorps à des taux élevés après le traitement, alors que l'accès palustre est terminé.

I.6.1.3. Diagnostic moléculaire

Ce diagnostic utilise la technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Elle permet l'amplification génique, repère dans un prélèvement, à l'aide d'amorces synthétiques, une séquence nucléotidique sélectionnée et la multiplie au moyen de cycle de polymérisation. La PCR est certainement la technique la plus sensible mais elle ne peut répondre aux diagnostics d'urgence car très coûteuse et nécessitant un équipement et une compétence particulière. Plusieurs variantes de la PCR ont amélioré la sensibilité et la spécificité du diagnostic du paludisme. On peut citer : la réaction de polymérisation en chaîne classique et la réaction de polymérisation en chaîne nichée (*Nested PCR*) (Abdullah *et al.*, 1996). La *Nested PCR* est une méthode d'amplification en deux étapes. Elle permet également une identification d'espèce plasmodiale. Depuis 1993, elle est restée la méthode la plus employée à cause du gain de sensibilité et de la spécificité d'espèces (Snounou *et al.*, 1993). Toutefois, comme la recherche des Plasmodies est un acte d'urgence, les techniques microscopiques demeurent l'examen de première intention en raison de la lourdeur de la PCR (Rubio *et al.*, 1999).

I.6.2. Morbidité et mortalité liées au paludisme

Le paludisme constitue la première cause de morbidité dans le pays. Bien qu'il existe encore au Cameroun quelques zones d'hyper endémicité palustre (zone de forêt), le niveau d'endémicité du paludisme s'est stabilisé et est devenu méso-endémique grâce à la mise en œuvre des stratégies de prévention, des mesures d'hygiène et d'assainissement de l'habitat et à une plus grande accessibilité aux services de santé. En milieu urbain, on assiste à une adaptation des anophèles aux gîtes pollués inféodés aux moustiques du genre *Aedes* et *Culex* (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). C'est ainsi que l'on fait face aujourd'hui à une urbanisation de la maladie qui est hypo endémique dans la plupart de grandes villes du pays.

Au Cameroun, la morbidité générale liée au paludisme était estimée à 36% en 2010. Au sein des groupes vulnérables. Cette morbidité était supérieure à 50% chez les enfants de moins de 5 ans et de 38% chez les femmes enceintes. Suivant les données des structures sanitaires, la mortalité liée au paludisme quant à elle est passée de 43% à 24% entre 2008 et 2010, les enfants de moins de cinq continuant à payer le plus lourd tribut (MINSANTE, 2011).

I.6.3. Distribution et bio écologie des vecteurs

La distribution des vecteurs au Cameroun est fortement influencée par la diversité éco-climatique et l'impact de l'homme sur l'environnement (Ayala *et al.*, 2009), donnant lieu à différents faciès épidémiologiques du paludisme. Ainsi, les conditions climatiques particulières allant de la forêt équatoriale dans la partie sud du pays à la zone soudano sahélienne dans la partie septentrionale, créent une diversité des vecteurs. Plus d'une quarantaine d'espèces anophéliennes sont recensées dans le pays, dont cinq vecteurs majeurs, *Anopheles (cellia) gambiae* Giles, 1902; *Anopheles funestus* Giles, 1900; *Anopheles arabiensis* Patton, 1905; *Anopheles nili* (Theobald), 1904; *Anopheles moucheti moucheti* Evans, 1925 et neuf vecteurs secondaires (*Anopheles paludis* Theobald, 1900; *Anopheles carnavaletii* Brunhes, le Goff & Geoffroy, 1998; *Anopheles coustani* Laveran, 1900; *Anopheles marshallii* (Theobald), 1903; *Anopheles ziemanni* Gruenberg, 1902; *Anopheles pharoensis* Theobald, 1901; *Anopheles hancocki*, Edwards 1929; *Anopheles wellcomei wellcomei* Theobald, 1904; *Anopheles (cellia) ovengensis*) (Robert *et al.*, 1992; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006). *Anopheles gambiae* s.s. et *An. arabiensis* jouent un rôle clé dans la transmission du paludisme (Fondjo, 1996). La fréquence d'*An. gambiae* s.s. diminue progressivement de la forêt vers la savane et le sahel, et inversement pour *An. arabiensis*. Des deux formes moléculaires M (*An. coluzzii*) et S (*An. gambiae*) d'*An. gambiae* s.s., la forme M prédomine dans la Région littorale (Wondji *et al.*, 2005). Chacune de ces espèces a des préférences pour des biotopes particuliers et présente une grande capacité vectorielle à l'origine de la forte endémicité palustre observée.

I.7. Stratégies de lutte contre les vecteurs du paludisme

Afin d'interrompre le cycle de transmission du paludisme, plusieurs stratégies sont mises en œuvre pour influencer la compétence et la capacité vectorielle des anophèles. Bien que les stratégies en vue de la réduction de la compatibilité vecteur-parasite par des procédés génétiques existent (Clayton, 2006), notamment par la production des moustiques transgéniques, les plus répandues visent à réduire la densité des moustiques ou la longévité des femelles adultes ainsi que la réduction du contact homme-vecteur. Le choix des stratégies est le plus souvent guidé par la bio écologie des espèces visées, de leur comportement et des moyens financiers disponibles.

I.7.1. Politique national en matière de lutte contre les vecteurs au Cameroun

La politique en matière de lutte contre les vecteurs du paludisme tel que définie par le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), fait appel à deux outils majeurs : les MILDA dont la distribution et l'utilisation systématique sont encouragées au sein de la population générale, et les Aspersions intradomiciliaires (AID) dans les ménages.

Depuis les années 2004, la distribution des MILDA s'est intensifiée dans un premier temps avec pour objectif de protéger les groupes vulnérables que sont les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. L'an 2009 a marqué un changement dans la politique de couverture de la population en MILDA. En effet, c'est au courant de cette année qu'a eu lieu la première campagne de distribution visant une couverture universelle (1 MILDA pour deux personnes). Les taux de possession et d'utilisation ont connu une nette augmentation avec la grande campagne de distribution des MILDA en 2011.

Quant à l'AID, une dizaine de districts de santé pilotes représentatifs de l'ensemble des faciès épidémiologiques du paludisme au Cameroun avaient été sélectionnés pour son implémentation. Elle a effectivement débuté en 2009 à Etam-Bafia, dans le DS de Nkolndongo, mais faute de financement, cette stratégie de lutte n'a pu s'entendre. Toutefois, certaines organisations non-gouvernementales comme CCA-SIDA, grâce aux financements d'ExxonMobil et COTCO ont implémenté cette stratégie dans les quartiers insalubres et en zones marécageuses situés en périphérie du centre urbain de la ville de Douala (Bilonguè, New Town aéroport, Mabanda, Sodiko, Bonamikano, Dikollo, Bali et Bonadoubè).

I.7.2. Lutte anti-larvaire

Cette méthode vise le stade aquatique du développement du moustique et fait référence à la gestion ciblée de leurs zones de reproduction avec pour objectif de réduire le nombre de larve et de nymphe. Dans le contexte de la gestion intégrée des vecteurs du paludisme, cette méthode est recommandée en tant que mesure supplémentaire aux MILDA et aux AID. Cette lutte fait appel entre autres à la modification et la manipulation de l'habitat par drainage des eaux de surface, les traitements larvicides qui impliquent l'application d'insecticides biologiques ou chimiques aux plans d'eau, et la lutte biologique qui consiste à introduire des prédateurs naturels (poissons ou invertébrés) dans les gîtes potentiels. Des formes granulés de combinaison de *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* (Vectomax) sont commercialisés pour le traitement des gîtes larvaires de moustiques.

Si l'intensification des programmes de traitements larvicides a été observée en Afrique ces dernières années (Fillinger *et al.*,2009; Killeen *et al.*,2002), l'on a également enregistré de nombreux échecs dont les causes sont principalement à rechercher dans un mauvais ciblage et une mauvaise application des produits larvicides. L'application des traitements larvicides est recommandée dans des zones où les sites de reproduction des moustiques sont peu nombreux, fixes et repérables, faciles à identifier et à traiter. Si ces interventions peuvent être utiles dans des zones urbaines et périurbaines, il est peu probable qu'elles soient efficaces dans la plupart des milieux ruraux d'Afrique où les sites de reproduction sont généralement innombrables, mouvants et largement dispersés.

I.7.3. Lutte adulticide

La stratégie la plus largement utilisée est l'AID visant à lutter contre les vecteurs du paludisme endophiles et anthropophiles. Le DDT (Dichloro Diphenyl Trichloroethane) a été longtemps l'insecticide de choix pour les aspersion du fait de sa rémanence et son efficacité contre les moustiques et autres insectes nuisibles comme les cafards et les punaises. Son utilisation de nos jours doit strictement se faire suivant les règles prescrites par l'OMS. A défaut du DDT, les insecticides moins rémanents dans l'environnement à l'instar des organophosphorés (Malathion), carbamates (Bendiocarb) ou pyréthriinoïdes (Perméthrine) sont utilisés. Bien que l'un des inconvénients majeurs de cette méthode est qu'elle ne vise que les anophèles endophages et/ou endophiles (Killeen, 2014), la mise en œuvre des AID a permis de réduire la mortalité liée au paludisme, notamment en Afrique du Sud (Mabaso *et al.*, 2004)

Ces dernières années ont vu apparaître de nouveaux insecticides destinés aux AID :

- SumiShield 50WG, est nouveau produit pour les programmes de pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide à effet rémanent. L'insecticide est la clothianidine qui est une néonicotinoïde. La formulation est non répulsive, ce qui permet d'exposer les moustiques au repos plus longtemps.
- Actellic®300CS est une nouvelle formulation à effet rémanent sous forme de microcapsules de Pyrimiphos-méthyl, insecticide de la classe des organophosphoré. Il est spécifiquement conçu pour être utilisé dans les programmes de pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide à effet rémanent.

I.7.4. Réduction du contact homme-vecteur

Cette stratégie consiste en l'établissement d'une barrière physique et/ou chimique entre les vecteurs et l'homme.

I.7.4.1. Moustiquaires imprégnées d'insecticides

Longtemps utilisée pour se protéger des piqûres de moustiques, la moustiquaire est l'outil de prévention le plus répandu (Lengeler *et al.*, 2004). Depuis des années, cet outil a connu plusieurs révolutions tant au niveau des formes que des couleurs et des dimensions. C'est ainsi qu'on est progressivement passé des moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII) qui nécessitaient des processus de ré-imprégnations aux MILDA, ne nécessitant aucun retraitement durant la durée de vie de la moustiquaire estimée entre 3 et 4 ans (Guillet *et al.*, 2001). Mais le point culminant dans l'évolution et l'efficacité de la moustiquaire reste leur imprégnation d'insecticides (Vien *et al.*, 1984) combinant ainsi à la barrière physique, un effet répulsif et létal. L'effet répulsif des insecticides d'imprégnations empêche le moustique de piquer au travers de la moustiquaire et d'y pénétrer lorsque celle-ci, de par le temps d'utilisation est trouée. L'effet létal sur les moustiques conféré par les insecticides concoure quant à lui à la protection communautaire. Il est généralement admis qu'une couverture de la population supérieure à 80% entraîne une diminution de la transmission palustre en réduisant la densité vectorielle, la durée de vie du moustique ainsi que les indices sporozoïtiques (Lengeler, 2004). C'est ainsi que l'on trouve sur le marché des MILDA imprégnées avec la deltaméthrine (Dawaplust 2.0, Panda net 2.0, Yahe, Yorkool), la perméthrine (Olyset Net), l'alphacyperméthrine (Duranet, Interceptor; Royal sentry; MAGnet).

I.7.4.2. Moustiquaire de troisième génération avec synergiste

On estime que 68 % des 663 millions de cas de paludisme ont été évités depuis 2000, grâce aux MILDA (OMS, 2016). Leur impact a même été plus important que l'utilisation de médicaments anti-paludisme (Bhatt *et al.*, 2015). Ces gains engendrés contre le paludisme pourraient être compromis. En effet, Les pyréthriinoïdes sont les seules classes d'insecticides recommandés par l'OMS pour l'imprégnation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA). Cependant depuis plusieurs années est apparu la résistance des vecteurs majeurs du paludisme et la propagation de celle-ci inquiète sur l'efficacité de la MILDA qui reste l'outil phare de la prévention contre le paludisme en Afrique pour son rapport cout-efficacité. Dans la perspective de la conservation de l'efficacité de la MILDA face à la

propagation de la résistance des vecteurs est apparu des combinaisons de MILDA avec des synergistes, en l'occurrence le PBO (piperonyl butoxide). Le PBO est un synergiste qui agit en inhibant certaines enzymes métaboliques (par exemple, les oxydases à fonctions mixtes) dans le moustique qui détoxifie ou séquestre les insecticides avant qu'ils puissent avoir un effet toxique sur le moustique. Par conséquent, comparé à une MILDA classiques imprégnées uniquement de pyréthriinoïdes, celles avec la combinaison pyréthriinoïdes-PBO permet avoir un effet létal accru sur les vecteurs du paludisme qui expriment de tels mécanismes de résistance (Protopopoff *et al.*, 2018). Ainsi, depuis 2017, MILDA avec PBO sont considérés par l'OMS comme contre une nouvelle classes de méthode de lutte antivectorielle (WHO, 2017). Les marques communes sur le marché sont entre autres Permanet 3.0 (deltamethrine + PBO), Olysetplus (permethrine + PBO), Dawaplus 3.0 (deltamethrine + PBO), Veeralin (Alphacypermethrine +PBO). Cependant ces nouveaux types de MILDA ne doivent en aucun cas être considérés comme un moyen de gestion de la résistance.

I.8. Résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides

I.8.1. Classes d'insecticides

Les insecticides constituent un outil important dans la lutte antivectorielle en général et la prévention du paludisme en particulier. Ils offrent un éventail important d'utilisation et peuvent être utilisés directement par aspersion des surfaces ou incorporés sur les matériaux (moustiquaires, grilles des portes et fenêtres, vêtements, peinture...). Un bon nombre de ces insecticides utilisés est neurotoxique et agit principalement sur le système nerveux central des insectes. Les insecticides utilisés agissent sur les canaux ioniques voltage-dépendants à l'origine de l'activité nerveuse, altérant la transmission synaptique, relais de l'information nerveuse. Quatre familles de produits chimiques sont couramment utilisées dans la lutte antivectorielle : les organophosphorés, les organochlorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes (Nauen, 2006).

I.8.1.1. Organophosphorés

Les organophosphorés inhibent l'acétylcholinestérase, enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine après la transmission de l'information par ce neurotransmetteur (Figure 16). En absence de cette hydrolyse, l'augmentation de l'acétylcholine induit une hyperactivité aboutissant à la mort de l'insecte (Raymond-Delpech *et al.*, 2005). Les principaux insecticides de la classe des organophosphorés sont : le malathion, le fénitrothion, le diazinon et le chlorpyrifos-ethyl.

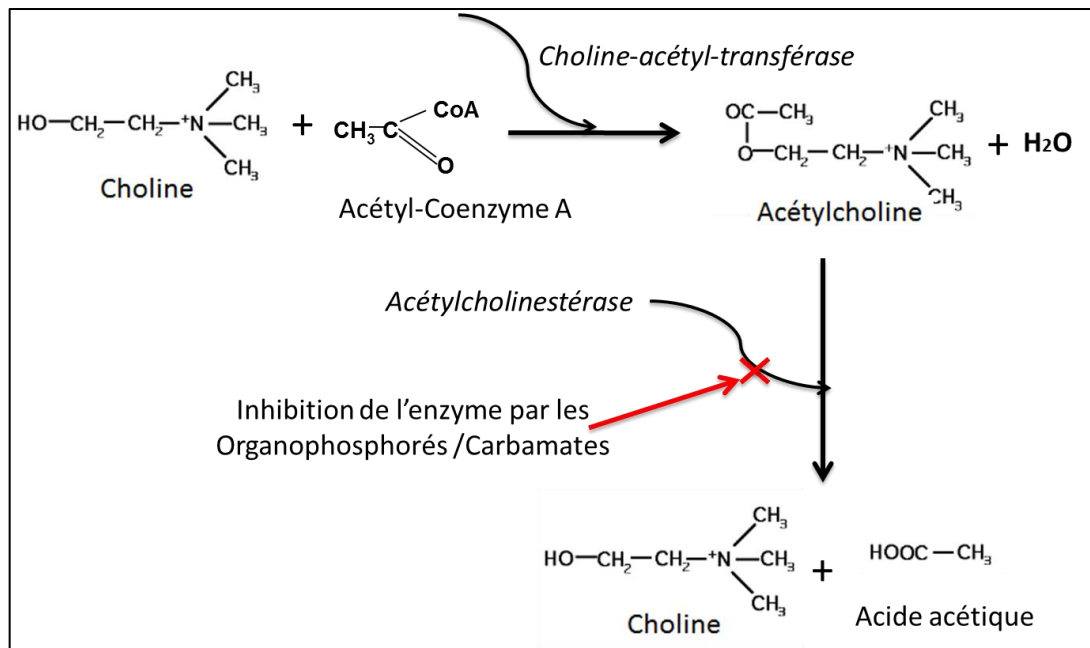


Figure 16 : Réaction chimique de l'hydrolyse l'acétylcholine

I.8.1.2. Carbamates

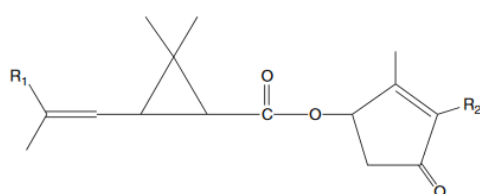
Les carbamates sont des esters de l'acide carbamique. Comme les organophosphorés, les carbamates inhibent l'acétylcholinestérase (Figure 16). Ils ont longtemps été considérés comme des insecticides alternatifs dans les zones de résistance aux pyréthrinoïdes (Akogbéto *et al.*,2010). Le bendiocarb et le propoxur sont les plus communément utilisés en santé publique.

I.8.1.3. Organochlorés

Ce sont des insecticides neurotropes qui altèrent le fonctionnement des canaux sodiques indispensables à la transmission de l'influx nerveux. Ils comprennent entre autres, la dieldrine et le lindane, le dichloro-diphényl-trichloréthane (DDT) qui est sans doute le plus connu. Le DDT présente une grande solubilité dans les solvants organiques, les graisses et le pétrole et a été l'insecticide le plus utilisé notamment pour les pulvérisations intra-domiciliaires à grandes échelles pendant les campagnes d'éradication du paludisme dans les années 1950. Ceci s'explique par sa combinaison de ses trois propriétés (répulsif, irritabilité et toxicité) vis-à-vis des moustiques. De nos jours, son utilisation est restreinte aux AID. Le DDT agit en perturbant l'ouverture des canaux sodium le long de l'axone chez l'insecte qui meurt après hyperexcitation, convulsions et paralysie.

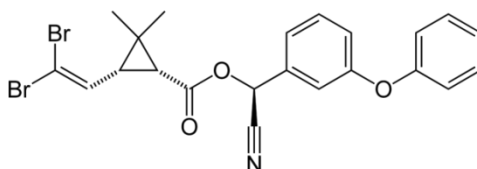
I.8.1.4. Pyréthrinoïdes

Les pyréthrines appartiennent à la classe des terpenoïdes. Ce sont des composés organiques aux propriétés insecticides contenus dans les graines d'une plante pérenne, *Chrysanthemum cinerariifolium*. Ils peuvent aussi être industriellement synthétisés. A cause de leur caractère biodégradable, les pyréthrines ont progressivement remplacé les organophosphorés et organochlorés (Kikuta *et al.*, 2011). Le nom «pyréthrine» a progressivement disparu, remplacé par «pyréthrinoïdes» qui sont les noms des analogues synthétiques des pyréthrines. Les pyréthrinoïdes sont peu toxiques pour les mammifères et pour l'environnement. La formule chimique générale des pyréthrinoïdes est la suivante :



Pyréthrine I, R1 = CH₃; Pyréthrine II, R1 = CO₂CH₃

La deltaméthrine est un exemple de composé chimique de la famille des Pyréthrinoïdes. Elle est utilisée principalement comme insecticide et répulsif pour les insectes ou les serpents en raison de ses propriétés neurotoxiques.



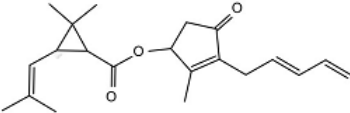
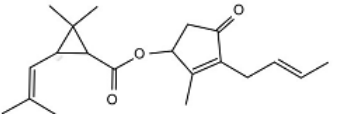
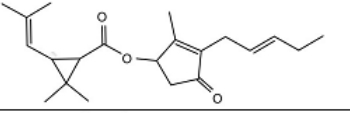
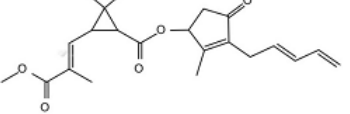
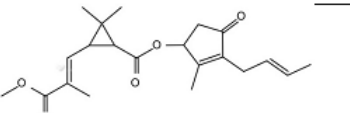
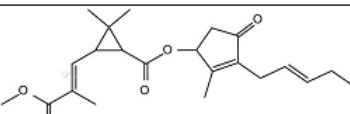
Formule chimique de la deltaméthrine ou la (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthyl-cyclopropane carboxylate de (S)- α -cyano-3-phénoxybenzyle (Kikuta *et al.*, 2011).

- Mode d'action et propriétés physico-chimiques des pyréthrines

Les pyréthrinoïdes sont des insecticides dits « de troisième génération » copiés sur les pyrèthrines naturels, en cherchant à augmenter leur toxicité. Ils sont des modulateurs des canaux sodium voltage-dépendants qui sont à l'origine de la phase de dépolarisation des potentiels d'action. Cette classe d'insecticides est divisée en deux types (type I et II) et chaque groupe de pyrèthrine est composé de trois esters d'acide chrysanthémique (pyrethrine, cenerine, jasmoline) à partir desquels ils sont synthétisés. Structurellement, la différence clé entre les groupes I et II est l'absence ou la présence d'une liaison alpha-cyanée (Tableau I).

Les pyréthrinoïdes de type II ralentissent plus longtemps l'inactivation des canaux sodium que ceux de type I. Les pyréthrinoïdes de type I inactivent les canaux juste assez pour provoquer une activité répétitive alors que ceux de type II la prolonge sur des périodes suffisamment longues pour que la membrane se dépolarise (Breckenridge *et al.*, 2009). Cette dépolarisation cause une diminution du gradient électrochimique du sodium ce qui entraîne une diminution de l'amplitude des potentiels d'action, puis la perte de l'excitabilité neuronale (Shafer *et al.*, 2005). Cette action neurotoxique provoque une transmission continue de l'influx nerveux qui aboutit à des convulsions puis à la tétanie de l'insecte. En raison de leur rapidité d'action à faible dose, leur effet excito-répulsif et leur innocuité pour l'homme, les pyréthrinoïdes sont les seuls insecticides recommandés par l'OMS pour l'imprégnation des moustiquaires (Zaim *et al.*, 2000). Quant au DDT, depuis son interdiction en 1972, les organophosphorés et les pyréthrinoïdes sont les principaux insecticides utilisés en santé publique. Cependant, malgré son interdiction, cette molécule a continué à être utilisée en aspersions intradomiciliaires (Overgaard & Angstreich, 2007).

Tableau I : Propriétés chimique et physique des Pyréthrines.

Type	Composé chimique	Structure chimique	Formule chimique	Masse Moléculaire (g/mol)	point d'ébullition (°C)	Pression vapeur (mm Hg)	Solubilité dans l'eau (mg/L)
Pyréthrine I	Pyrethrine I		C ₂₁ H ₂₈ O ₃	328,4	170	2.02 x 10 ⁻⁵	0,35
	Cinerine I		C ₂₀ H ₂₈ O ₃	316,4	136-138	1.1 x 10 ⁻⁶	3,62
	Jasmoline I		C ₂₁ H ₃₀ O ₃	330,4	-	4.8 x 10 ⁻⁷	0,60
Pyréthrine II	Pyrethrine II		C ₂₂ H ₂₈ O ₃	372,4	200	3.9 x 10 ⁻⁷	125,6
	Cinerine II		C ₂₁ H ₂₈ O ₃	360,4	182-184	4.6 x 10 ⁻⁷	1038
	Jasmoline II		C ₂₂ H ₃₀ O ₃	374,4	-	1.9 x 10 ⁻⁷	214,8

Légende : différentes type de pyréthrines

- Biosynthèse des pyréthrines

Les fractions acides et alcools des pyréthrines sont bio synthétisées à partir du cycle du 2 -C- méthyl-D-érythritol 4-phosphate et oxylipines, respectivement
Les pyréthrines résultent de l'estérification de deux types d'acides :

- l'acide chrysanthémique issu de l'acide pyruvique et du Glycéraldéhyde 3-phosphate.
- l'acide pyréthrique issu de l'estérification de l'acide linoléique (Figure 17).

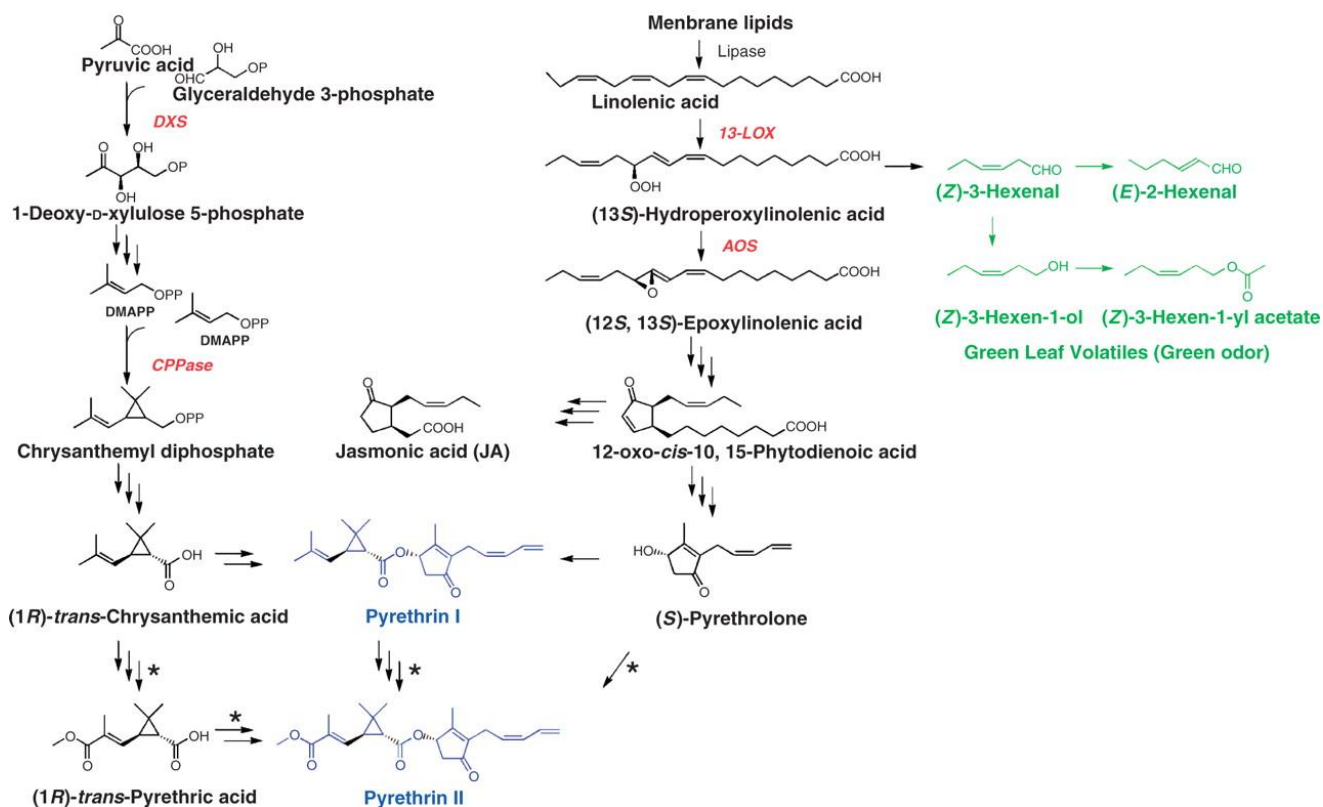


Figure 17 : Biosynthèse des pyréthrines naturelles

CPPase : chrysanthemyl diphosphate synthase; *AOS* : allene oxide synthase; *DXP*, 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate; *DXS* : 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphatesynthase; *LOX*: lipoxygenase; *GLV*: green leaf volatile; *JA* : acide jasmonique. Les Pyréthrines et l'acide jasmonique sont de couleur bleue, tandis que *GLV* sont de couleur verte. Les fractions acides et alcools des pyréthrines sont bio synthétisés à partir du cycle du 2 -C- méthyl-D-érythritol 4-phosphate et oxylipines, respectivement. Les noms des enzymes intervenant dans la biosynthèse sont indiqués en rouge. Deux voies indiquées par des astérisques sont équivoques à la conversion de l'acide chrysanthémique (la partie acide de la pyréthrine I) en acide pyréthrique (la partie acide de Pyrethrine II) (Kikuta et al., 2011).

I.8.2. La résistance aux insecticides

L'effet létal des insecticides est dû à leur toxicité résultant d'une interaction avec un récepteur chez l'insecte. L'insecticide une fois en contact avec l'insecte, pénètre dans l'organisme de ce dernier où il peut/ou pas être transformé en un métabolite actif, puis

transporté jusqu'à son récepteur. Tout mécanisme qui modifie l'une de ces étapes peut conduire à une résistance (Soderlund & Bloomquist, 1990). Ce phénomène donne lieu à l'apparition dans la population d'individus possédant la faculté de survivre à des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce (Figure 18). Cette résistance aux insecticides se peut se manifester par la modification du comportement de l'insecte, entraînant l'évitement du contact avec l'insecticide, une modification cuticulaire limitant la pénétration de l'insecticides à travers la cuticule du moustique), une modification des voies métaboliques permettant sa dégradation ou enfin une modification de sa cible (Figure 19). La résistance est un caractère héréditaire (allèles/gène de résistance) et repose sur une évolution génétique soit par sélection d'allèles préexistants soit par sélection d'allèles apparus par mutations spontanées ou par migration. Ainsi, la pression insecticide n'induit en rien l'apparition de nouveaux gènes de résistance, mais ne fait que les sélectionner.

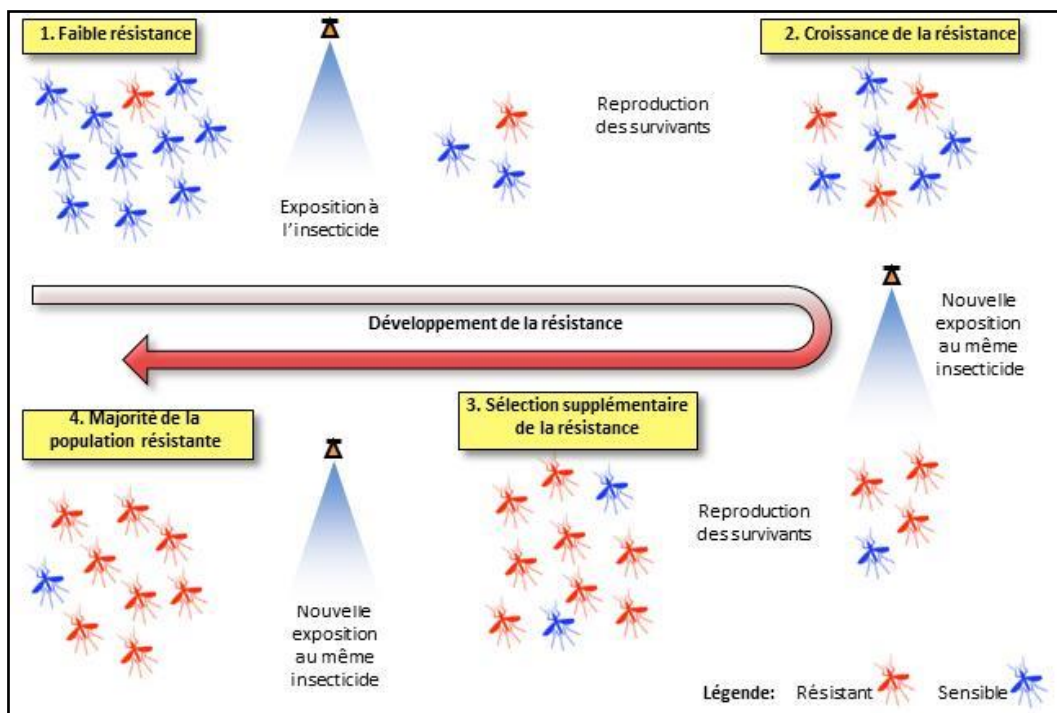


Figure 18 : Développement d'une résistance à un insecticide dans une population de moustiques (Source Knols, 2011)

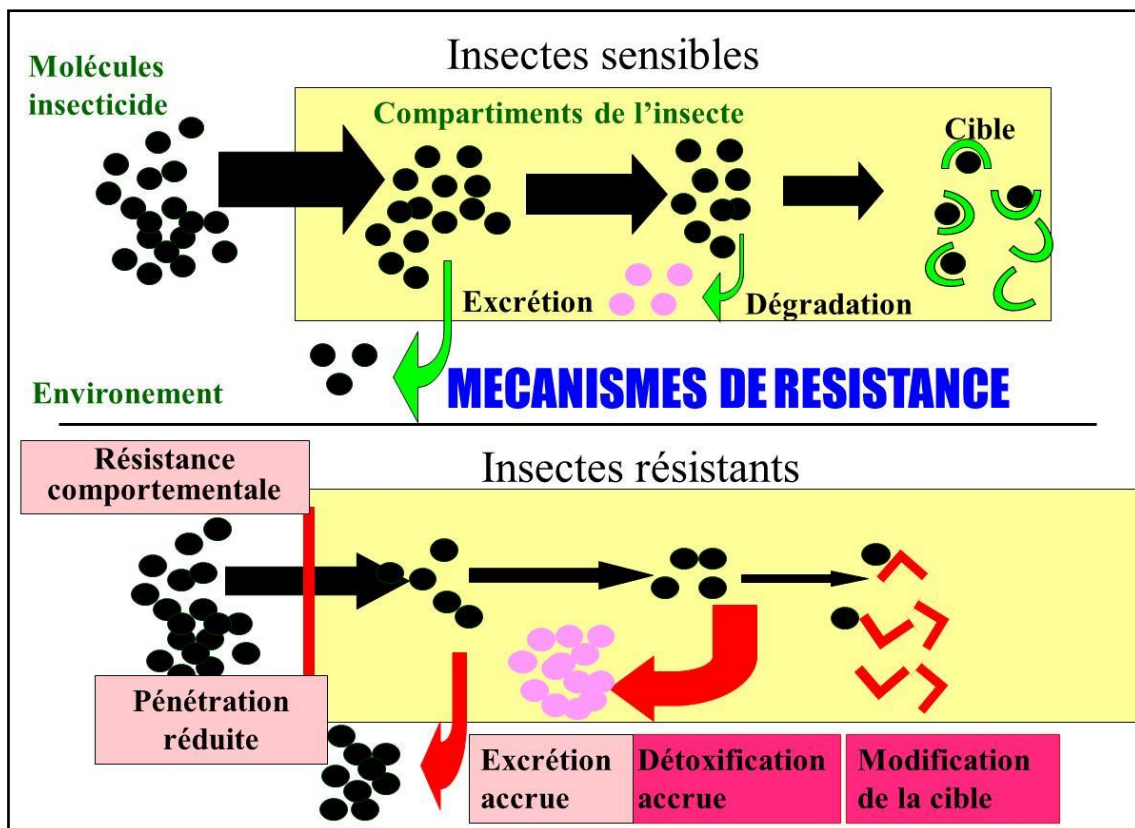
Les vecteurs du paludisme, du fait de la pression insecticide peuvent sélectionner des gènes de résistance aux différentes classes d'insecticides. Les mécanismes mis en jeu dans cette résistance peuvent être cuticulaire, comportementale, métabolique ou par modification de cible.

I.8.3. Mécanismes de résistance

Les mécanismes de résistance développés par les insectes peuvent être regroupés en quatre catégories distinctes à savoir (1) la surexpression des enzymes de détoxification (résistance métabolique), (2) la modification de cibles d'insecticide, (3) la réduction de la pénétration de l'insecticide à travers la cuticule et (4) le comportement d'évitement de l'insecticide (Hemingway et Ranson, 2000). Les deux premiers mécanismes sont les plus connus et les plus documentés chez les vecteurs du paludisme.

I.8.3.1. Résistance métabolique

La résistance métabolique est due à une augmentation de l'activité des enzymes assurant la détoxification des insecticides, essentiellement les estérases, les monooxygénases à cytochrome P450 et les glutathion *S*-transférases. Cette augmentation peut provenir d'une modification de la conformation de l'enzyme la rendant plus efficace, de la mutation d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme ou d'une augmentation du nombre de copie du gène qui code pour ces enzymes (Hemingway *et al.*, 2004; David *et al.*, 2005).



(Source : Lapied *et al.*, 2009)

Figure 19 : Schéma général des mécanismes de la résistance aux insecticides chez les insectes

I.8.3.2. Résistance par modification de la cible

La résistance provient soit d'une augmentation de la quantité d'acétylcholinestérase (Fournier & Mutero, 1994), soit d'une diminution de l'affinité de celle-ci avec les insecticides (Soderlund & Bloomquist, 1990). Elle se traduit par l'inactivité de l'insecticide qui n'arrive pas à se fixer sur son site d'action qui est le canal sodium pour les organochlorés et les pyréthriinoïdes et les pyréthriinoïdes, l'acétylcholinestérase pour les organophosphorés et les carbamates et les récepteurs de l'acide δ -aminobutyrique (GABA_r) pour organochlorée (cyclodiènes et lindane). La modification de ces cibles résulte de mutations ponctuelles survenues dans la séquence codant pour la protéine constitutive de la cible (Chandre et al, 1998), leur conférant alors des configurations incompatibles à la fixation des insecticides. Dans l'ensemble trois types de mutations sont décrites chez les principaux vecteurs du paludisme : (1) la mutation de type kdr, la mutation Ace-1 et la mutation Rdl.

a) Mutations de type kdr

Les mutations de type «kdr» mises en évidence au niveau du canal sodium sont responsables de la résistance des vecteurs du paludisme au DDT et aux pyréthriinoïdes, en particulier chez les espèces *An. gambiae*, *An. coluzzi* et *An. arabiensis* (Martinez-Torres *et al.*, 1998). La protéine de la sous-unité alpha du canal sodium comporte quatre domaines homologues répétés comprenant chacun six segments hydrophobes transmembranaires. La résistance de type Kdr (*knock-down resistance*) est due au remplacement d'un acide aminé dans le sixième segment du domaine II du canal sodium (Figure 20). Plus spécifiquement, les mutations se traduisent par une substitution à la position 1014 de l'acide aminé Leucine par la Phénylalanine (L1014F) (Martinez-Torres *et al.*, 1998) ou de la Phénylalanine par Sérine (L1014S) (Ranson *et al.*, 2000). Une autre mutation, la N1575Y, située dans la boucle intracytoplasmique reliant les domaines III et IV des canaux sodiques, a été observée dans des populations d'*An. gambiae* porteur de la mutation L1014F/S. Il s'agit de la substitution de l'asparagine à la tyrosine au niveau du codon 1575. Cette mutation a été observée chez *An. gambiae* et / ou *An. coluzzii* du Burkina Faso, du Ghana, du Bénin et du Cameroun (Jones *et al.*, 2012; Tene *et al.*, 2013). Elle augmente de manière significative la résistance aux pyréthriinoïdes, alors que seule, la mutation N1575Y, ne semble avoir aucun effet (Wang, 2013). Des mutations Kdr ont été également rapportées chez *Ae. aegypti*, notamment aux positions 989, 1011 et 1016 (segment IIS6) ainsi que 1534 (segment IIIS6) (Harris *et al.*, 2010; Linss *et al.*, 2014).

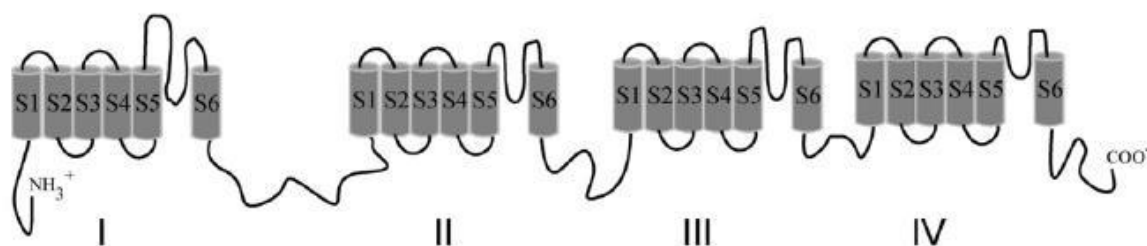


Figure 20 : Sous-unité alpha du canal sodium (Source : Moignot *et al.*, 2009).

b) Mutations Ace-1

La mutation Ace-1 a été mise en évidence au niveau de l'acétylcholinestérase et confère aux vecteurs du paludisme une résistance aux carbamates et aux organophosphorés (Weill *et al.*, 2003, Djogbénu *et al.*, 2008). Il s'agit d'une substitution au sein de cette protéine de l'acide aminé «Glycine» par la «Sérine» à la position 119 (G119S) du gène. Cette substitution G119S du gène ACE-1 codant le site catalytique de l'AChE-1, est capable à elle seule d'empêcher la liaison des insecticides au site estérasique de l'acétylcholinestérase, par modification de la conformation (Weill *et al.*, 2003). Toutefois, cette mutation affecte également la fixation de l'acétylcholine, substrat naturel de l'AChE-1 chez le moustique, ce qui se traduit par une altération de tous les mécanismes chimiques induits par ce neurotransmetteur.

c) Mutation Rdl

La mutation du récepteur GABA-A, appelée mutation Rdl (pour *Resistance to Dieldrine*) se définit par la substitution de l'acide aminé alanine (Ala) par la sérine (Ser) ou plus rarement par la glycine (Gly) (A296S/G) du domaine transmembranaire M2. Les mécanismes de résistance sont mal connus (Wondji *et al.*, 2011) et serait basés sur une baisse d'affinité qui conduit à une efficacité amoindrie de l'insecticide organochloré concerné, la dieldrine. Ce phénomène de résistance par mutation semble particulièrement accentué lorsqu'il est associé à une augmentation du nombre de copies du récepteur GABA-A. Elle entraîne une résistance croisée aux cyclodiènes et au lindane (French Constant *et al.*, 1993). Cette résistance a été observé chez *Anopheles funestus* dans le Nord du Cameroun (Menze *et al.*, 2016).

I.8.3.3. Résistances par modifications comportementales

Ce mécanisme se traduit par des phénomènes d'échappement du moustique dans un environnement où l'utilisation d'insecticides est massive (forte couverture en MILDA ou la mise en œuvre des AID), en diminuant le contact avec celui-ci (Sokhna *et al.*, 2013 ; Moiroux

et al., 2012). Ces mécanismes d'accommodation naturelle sont connus depuis 1956, mais peu de recherches ont été menées dans ce domaine (Lockwood *et al.*, 1984). Certaines espèces, comme *An. funestus* et *An. gambiae*, ont ainsi fait évoluer leur comportement nutritif, développant l'exophagie (Reddy *et al.*, 2011; Fornadel *et al.*, 2010; Russell *et al.*, 2011). Alors que jusqu'ici, elles prenaient plutôt leur repas sanguin sur des sujets humains à l'intérieur des maisons, ces deux espèces ont peu à peu développé des habitudes largement exophages, loin des MILDA et AID (Russell *et al.*, 2011). Au Bénin, le taux d'exophagie d'*An. funestus* est passé de 45% à plus de 70%, après la distribution des MILDA (Corbel *et al.*, 2012). En Tanzanie, *An. funestus* pour s'adapter à la présence des MILDA dans les ménages est devenu à la fois exophage et zoophilique (Russell *et al.*, 2011).

I.8.4. Situation de la résistance au Cameroun

Ces dernières années ont vu la propagation de la résistance des vecteurs du paludisme aux différents insecticides dans tous les faciès éco épidémiologiques du pays (Figure 21). Les mécanismes de résistance métabolique et par modification de la cible sont les principales mis en jeu par ces vecteurs.

I.8.4.1. Résistance par modification de la cible

La résistance Kdr a été mise en évidence pour la première fois au Cameroun dans les régions de l'ouest, Littoral et Sud chez *An. gambiae* et *An. coluzzii* en 2006 (Etang *et al.*, 2006). Cette résistance s'est par la suite propager à l'ensemble du pays, entraînant une résistance des vecteurs aux pyréthrinoides et au DDT. Les deux allèles *kdr* 1014F et 1014S responsable de cette résistance coexiste chez *An. coluzzii* et chez *An. gambiae*, bien que la fréquence de ces allèles soit plus élevée chez *An. gambiae* que comparé à *An. coluzzii* (Nwane *et al.* 2011; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2015). La mutation A296S-RDL conférant une résistance à la dieldrine a été détectée chez *An. funestus* de la région du Nord du Cameroun (Wondji *et al.*, 2011, Mendze *et al.*, 2016).

I.8.4.2. Résistance métabolique

La résistance métabolique est régie principalement par trois familles enzymatiques : les glutathion-S-transférases qui ont été identifiées dans les populations d'*An. gambiae* s.l. du Littoral et du Centre, les oxydases retrouvées dans celles du Nord et du Centre, et enfin les estérases présentes dans l'ensemble des localités suscitées (Etang, 2003). Les gènes du cytochrome P450, tels que le CYP6P3, le CYP6M2 ont été trouvé impliqués dans la résistance

métabolique chez *An. gambiae* s.l. (Tene-Fossog *et al.*, 2013). Les études ont révélé la présence simultanée des mécanismes multiples de résistance de la population d'*An. gambiae*. La présence des mécanismes à la fois de la résistance métabolique et kdr chez ce vecteur constitue une menace (Nwane *et al.*, 2013 ; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2015). La mutation L119F du gène GSTe2, associée à la résistance au DDT, a été détectée à dans la chez *An. funestus* (Menze *et al.*, 2016 ; Riveron *et al.*, 2014).



Figure 21 : Distribution de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides au Cameroun (Source : IR Mapper)

I.8.5. Stratégie nationale de gestion de la résistance

La politique nationale en matière de surveillance et de gestion de la résistance s'inspire des recommandations de l'OMS contenues dans le Plan Global de Gestion des Résistances (WHO, 2012). Ces recommandations sont entre autres (i) la rotation des insecticides, (ii) la combinaison des plusieurs méthodes d'interventions et (iii) l'utilisation de la mixture (combinaison de plusieurs insecticides). Ces stratégies de gestion de la résistance visent à prévenir, retarder ou limiter le développement d'individus résistants au sein d'une population cible.

La pression de sélection qui est à l'origine du développement de la résistance des moustiques vecteurs du paludisme est principalement d'origine agricole (Diabate *et al.*, 2002). Par ruissellement ou contact direct, les traitements agricoles entraînent la présence de résidus d'insecticides dans les gîtes à anophèles. Dans le contexte de la lutte contre les vecteurs du paludisme, la seule stratégie qui puisse permettre le maintien de l'efficacité des traitements est l'utilisation de combinaisons d'insecticides. Cette stratégie repose sur l'utilisation combinée d'insecticides ayant des modes d'action différents (Taylor & Georghiou, 1979). Les insecticides peuvent être utilisés de façon simultanée ou alternée (rotation) dans le temps. Ainsi, la probabilité de voir apparaître une résistance à l'un des composés du mélange est rare (Curtis, 1985). L'intérêt fondamental de cette stratégie vient du fait que chaque insecticide du mélange va pouvoir éliminer les individus qui lui sont génétiquement sensibles.

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1. Description du site de l'étude

Pendant quatre années consécutives (2011-2014), des collectes transversales annuelles de moustiques adultes du genre *Anopheles* ont été effectuées dans le Nord du Cameroun, pendant la saison de haute transmission du paludisme (Septembre-Octobre), dans les DS de Pitoa (9° 23'0" N, 13° 32'0"E), Garoua (9° 18'0"N, 13° 24 '0"E) et Mayo Oulo (9° 7'34"N, 13° 37'20"E) (Figure 22). Le choix de cette région s'est fait sur la base des évidences de la présence de la résistance métabolique des vecteurs du paludisme en l'occurrence *An. gambiae* s.l. dans la localité de Pitoa (Etang *et al.*, 2007). De précédentes études avaient montré divers niveaux de résistance aux insecticides de la population vectrice laquelle résistance serait due aux activités agricoles (Chouaibou *et al.*, 2008). Un total de 38 villages (12 dans le DS de Pitoa, 17 dans celui de Garoua et 9 dans celui de Mayo Oulo) a été inclus dans l'évaluation. Pitoa est une zone périurbaine avec environ 108611 habitants. L'activité économique majeure est l'agriculture dont les principales cultures sont le riz, le coton, le mil, le sorgho et le maïs. Garoua quant à lui, est une zone urbaine avec une population d'environ 316957 avec des banlieues rurales qui dépendent presque entièrement de l'agriculture pour la subsistance. Mayo Oulo, principalement rurale, est une région montagneuse avec environ 91501 habitants. Contrairement aux banlieues de Garoua où le maïs, les tomates et les aubergines sont typiquement cultivés, à Mayo Oulo, les principales cultures sont le maïs, les haricots et les arachides. L'utilisation des insecticides dans les champs de coton est fréquente dans le DS de Pitoa. Par contre, dans le DS de Garoua et Mayo Oulo, très peu de pesticides sont utilisés par les cultivateurs. La transmission du paludisme et la résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme sont très bien documentées à Pitoa, et très peu dans les deux autres districts. Les trois zones ont un climat de type sahélien avec des précipitations annuelles moyennes de 700 à 1000 mm et une température moyenne annuelle de 26 à 33° C. *Anopheles gambiae* s.l est le principal vecteur du paludisme ainsi que les vecteurs sahéliens typiques comme *An. funestus*, *An. Pharoensis*; *Plasmodium falciparum* est l'espèce parasitaire du paludisme la plus répandue (Robert *et al.*, 1992; Atangana *et al.*, 2010).

Suivant la carte sanitaire, la Région du Nord est subdivisée en 13 DS (Figure 22) et 116 aires de santé. La Région dispose d'un Hôpital Régional, 12 Hôpitaux de District, 168 Centres de Santé Intégrés et de 9 Centres de Santé Médicalisés.

Tableau II : Répartition des villages dans les districts de santé

District de santé	Nombre de village	Population du district en 2011	Distance à partir du Centre du district de santé (km)	Aires de santé sélectionnées		Villages sélectionnés			
PITOA	12	108611	0	Pitoea	Guizigare	Boulgou	Lombou	Mayo lebri	
			13	Banaye	Banaye	Pene	Kirambo	Nassarao be	
			40	Boula ibib	Be centre	Mbolom	Boussa	Boula ibib	
GAROUA	17	316957	0	Kollere	Kollere	Kanadi II	Plateaux	Kanadi I	
			12	Nassarao	Nassarao-garoua				
			10	Lainde	Lainde I	Lainde II	Ouro lawan	Mboum aviation	
			7	Djamboutou	Djamboutou I	Djamboutou II	Bocki	Ouro garga	Londerou
			6	Ouro kanadi	Kanadi I	Ouro hourso I	Ouro hourso II		
MAYO OULO	9	91501	0	Mayo oulo	Mayo oulo	Batoum	Bouyoum		
			10	Dourbaye	Dourbaye	Bala	Maboni		
			42	Doumo	Doumo	Matara	Boussoum		

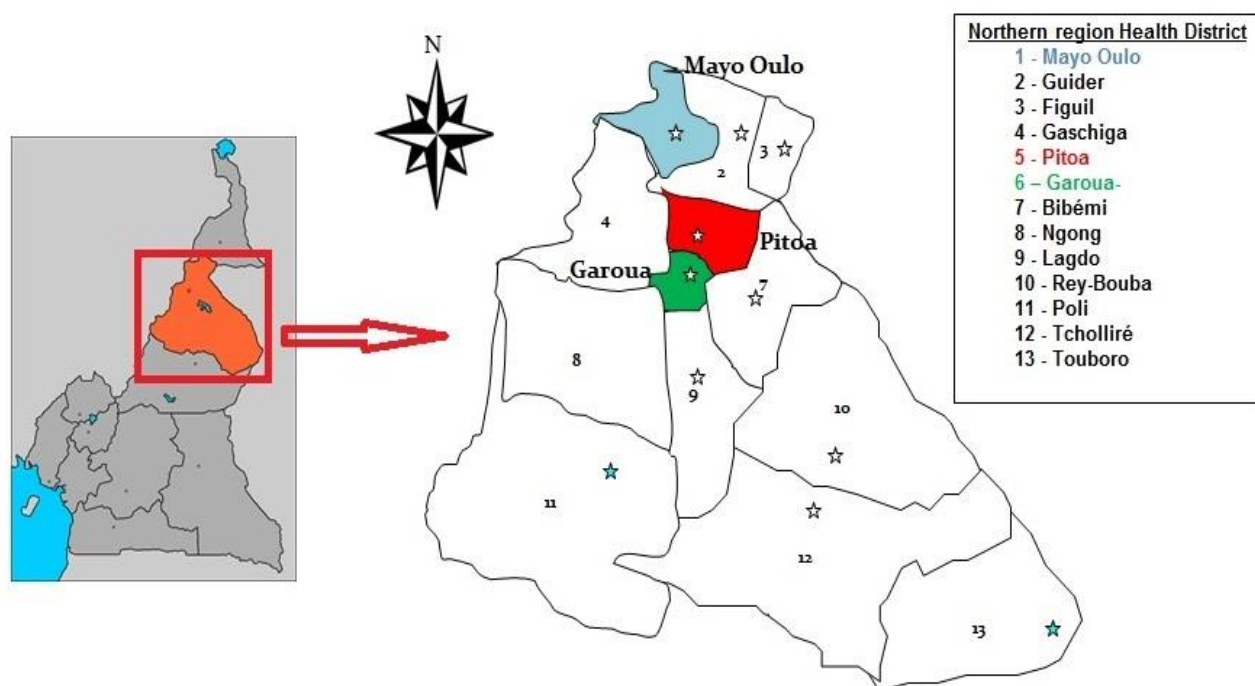


Figure 22 : Carte sanitaire de la Région du Nord montrant les districts de santé sélectionnée (1, 5 et 6)

II.2. Considérations éthiques

Dans le cadre du projet «*Impact Résistances*» dans lequel s'inscrivent les présents travaux, une Clairance Ethique (N° 102/CNE/SE/09) prenant en compte toute la durée de l'étude (Annexe 9) a été au préalable obtenue auprès du Comité National d'Ethique du Cameroun. Dans le cadre des collectes entomologiques sur appât humain, des adultes ont été au préalable formés à la collecte et ceux ayant une parfaite maîtrise de la technique ont été en définitif retenus. Un consentement verbal a été requis pour une participation volontaire à la collecte. La permission a été obtenue auprès des chefs de ménages dont les maisons ont été sélectionnées tant pour les captures sur appât humain que pour les collectes au pyréthre. Suivant la politique nationale de lutte contre le paludisme, les collecteurs présentant des signes de paludisme ont été testés (TDR/Microscopie). Ceux positifs ont été pris en charge gratuitement. Pour les études parasitologiques, un consentement éclairé (Annexe 4) a été au préalable obtenu auprès des parents ou tuteurs légaux avant l'enrôlement de leurs enfants dans l'étude. Les critères d'inclusion étaient la fourniture d'un consentement éclairé, être âgé entre 6 et 120 mois au moment du recrutement. Etaient non inclus dans l'étude ceux ayant planifiés de sortir de la zone d'étude. Tous les enfants diagnostiqués positifs au paludisme ont été systématiquement traités gratuitement.

II.3. Durée et période de l'étude

Les enquêtes entomologiques ont été menées de 2011 à 2014 tandis que celles parasitologiques se sont déroulées de 2013 à 2014. La période des enquêtes entomologiques et parasitologiques correspondait à la saison de haute transmission du paludisme (septembre-octobre) dans la région du Nord.

II.4. Population d'étude

La population d'étude était constituée des enfants âgés entre 6 et 120 mois.

II.5. Sensibilité de la population d'*Anopheles gambiae* s.l. à la deltaméthrine

Pour réaliser les tests de sensibilité de la population d'*An. gambiae* s.l., le stade larvaire a été collecté au cours des séances de prospections dans les gîtes potentiels. Après élevage des larves jusqu'au stade adulte, le protocole 2013 de l'OMS a été utilisé pour évaluer leur niveau de sensibilité à la deltaméthrine 0,05%.

II.5.1. Collecte et élevage des larves d'anophèles jusqu'au stade adulte

La prospection larvaire s'est faite dans chaque village des trois DS (Figure 23). Les collections d'eaux, les eaux stagnantes laissées aux abords des routes par le passage des véhicules et des animaux et tous gîtes potentiels ont été visités à la recherche d'éventuelles larves d'anophèles. Les larves et les nymphes d'*Anopheles* ont été collectées à l'aide des louches, tamis et pipettes pasteurs, puis transportées dans des bidons jusqu'au laboratoire de terrain. Les étiquettes sur les bidons et bols ont permis de différencier les lieux de collectes.



Figure 23 : Prospection et collecte des larves de moustiques sur le terrain (Tabue)

Une fois au laboratoire de terrain, les larves et nymphes collectées ont été placées dans les petits bols portant le code du village (Figure 24). A l'aide de pipettes Pasteur et tamis, des éventuels prédateurs de larves et nymphes, ainsi que les larves de moustiques autres que les anophèles ont été enlevés. Les larves d'anophèles ont été ensuite triées : d'une part les larves de première et de deuxième stade, et d'autre part celles de troisième et quatrième stade. Elles ont été remises dans les bols contenant de l'eau plus propre ramenée du terrain. Une fois les larves transférées, elles ont été nourries une fois par jour à base d'une alimentation riche en glucose (Tetra Mikromin®) jusqu'à l'obtention des nymphes. L'eau de chaque bol a été changée tous les deux jours afin de limiter le taux de mortalité des larves. Quant aux nymphes collectées sur le terrain, elles ont été directement placées dans de petits verres contenant de l'eau et déposées dans des cages recouvertes de tuiles de moustiquaires, dans l'attente de leur

émergence. Quotidiennement, les bols ont été inspectés et les nymphes collectées. Les étiquettes sur les cages et bols portaient les codes du village et la date de collecte. Une fois émergés, les anophèles femelles âgés de 3 à 5 jours ont été morphologiquement identifiés suivant la clé d'identification de Gillies & DeMeillon, (1968) et de Gillies & Coetzee, (1987), et utilisés pour les tests de sensibilité à la deltaméthrine 0,05%. Les anophèles adultes ont été nourris avec une solution de sucrose à 10%.

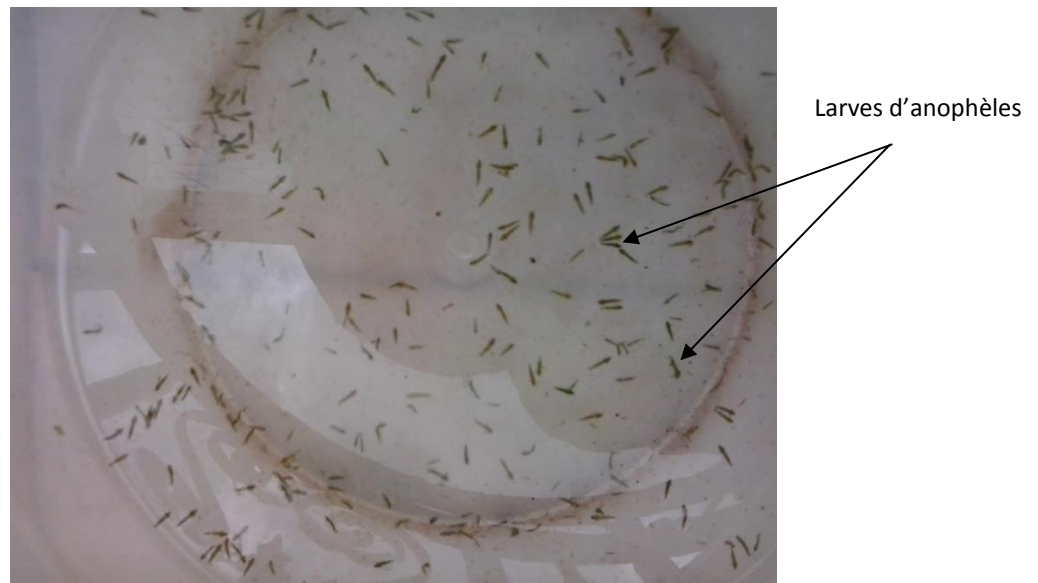


Figure 24 : Bol contenant les larves d'anophèles en élevage (Tabue)

II.5.2. Test de sensibilité aux insecticides et interprétation

Le protocole standard 2013 révisé de l'OMS (WHO, 2013) pour le test des moustiques adultes a été utilisé. Les espèces *An. gambiae* s.l. âgés de 3 à 5 jours ont été exposés aux papiers imprégnés de deltaméthrine 0,05% produits par le Centre de collaboration de l'OMS basé en Malaisie. Pour réaliser le test, quatre tubes de 25 moustiques chacun et un tube témoin de 25 moustiques, soit en moyenne 125 moustiques ont été utilisés (Figure 25). La réalisation des tests de sensibilité a été conditionnée par une hygrométrie d'au moins 78% à 80% et une température située entre 25°C et 28°C. Après introduction des moustiques dans les tubes d'observation contenant une feuille blanche non imprégnée d'insecticide (tube à point vert), un temps d'acclimatation d'environ une heure a été observé. Il s'en est suivi un transfert de moustiques dans les tubes contenant le papier imprégné d'insecticide (tube à point rouge). Le nombre de moustique assommé a été comptabilisé à 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes, et porté sur une fiche (Annexe 10) prévue à cet effet. Ils ont été par la suite transférés à nouveau dans le tube d'observation et le taux de mortalité reporté après 24 heures. A la fin de chaque

test, les moustiques ont été individuellement conservés dans du tube Eppendorf contenant du gel de silice, puis conservés dans un congélateur à -20°C.



Équipement en attente de la réalisation des tests en tube de sensibilité aux insecticides

Figure 25 : Laboratoire de terrain (Tabue)

Après 24 heures d'exposition des moustiques à l'insecticide, le taux de mortalité est calculé. Il est obtenu en faisant le rapport du nombre total de moustiques morts après 24 heures sur le nombre total de moustiques testés.

$$\text{Taux de Mortalité} = \frac{\text{Nombre total de moustiques morts}}{\text{Nombre total de moustiques testés}} \times 100$$

Le taux de mortalité dans le tube témoin est obtenu de manière similaire que dans les autres tubes; si la mortalité était supérieure à 20%, le test était annulé. Si par contre le taux de mortalité dans le tube témoin était supérieur à 5%, mais inférieur à 20%, alors cette mortalité était corrigée en utilisant la formule d'Abbot :

$$\text{Taux de Mortalité corrigé} = \frac{(\% \text{ de mortalité observée} - \% \text{ de mortalité du tube témoin})}{100 - \% \text{ de mortalité du tube témoin}} \times 100$$

Des critères définis par l’OMS permettent en fonction du taux de mortalité de classer les moustiques (d’une zone déterminée et pour un insecticide donné) selon qu’ils soient sensibles, résistants ou une probable résistance à confirmer. Ces critères de l’OMS sont (WHO, 2013) :

- Vecteur dit sensible pour une mortalité après 24 h comprise entre 98-100%
- Vecteur dit résistant pour une mortalité après 24 h inférieure à 90%
- Résistance possible à confirmer pour une mortalité après 24 h comprise entre 90-97%

II.6. Rôle des anophèles dans la transmission du paludisme dans les sites d’étude

II.6.1. Collecte et traitement des moustiques adultes

La collecte sur appât humain et la capture au pyrèthre ont été utilisées pour attraper les moustiques adultes.

II.6.1.1 Collecte sur appât humain

a) Procédure de collecte et identification des moustiques

Les collectes des moustiques adultes se sont déroulées pendant la saison de haute transmission de 2011 à 2014. Dans chacun des 38 villages sélectionnés, deux nuits consécutives de captures sur appât humain ont été organisées (Figure 26) et les moustiques adultes collectés à l’intérieur et aux alentours des maisons d’habitation. A cet effet, trois (03) maisons rotatives ont été choisies chaque nuit dans chaque village, soit 06 maisons pour les deux jours de collecte. Le choix des maisons était représentatif du village. La capture des moustiques s’est déroulée entre 18h00 et 06h00. Dans chaque maison, deux volontaires munis des tubes à hémolyse et des torches ont collecté les moustiques femelles se déposant sur leurs jambes dénudées. L’un des collecteurs était assis à la véranda à l’extérieur et l’autre à l’intérieur de la maison. Malgré l’aspect éthique controversé de cette méthode de capture, elle reste la plus indiquée pour une estimation réaliste de l’intensité de la transmission.



Figure 26 : Séance de capture nocturne sur appât humain

b) Détermination de la parité (pour déterminer l'âge physiologique des moustiques)

Les moustiques collectés et du genre *Anopheles* ont été identifiés à l'aide de la clé d'identification de Gillies & DeMeillon (1968) et de Gillies & Coetzee (1987). Le statut physiologique a été déterminé par la dissection des ovaires d'une proportion d'anophèles femelles, suivi de l'observation de la lame au microscope, objectif 10x et si nécessaire par confirmation à l'objectif 40x (Figure 27).

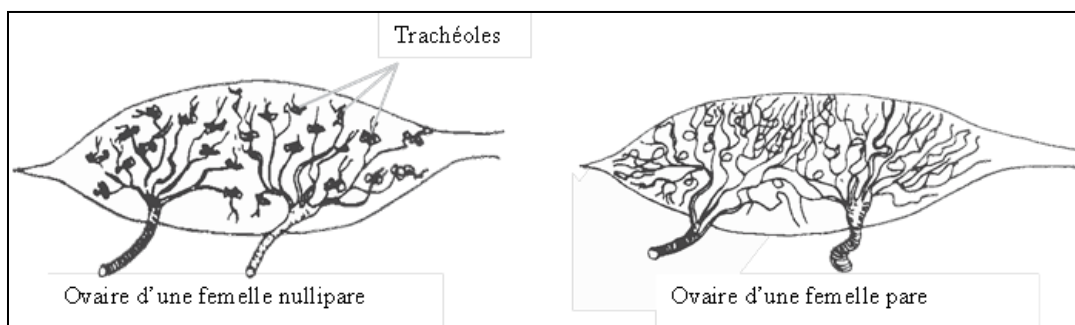


Figure 27 : Aspect des ovaires nullipares et pare au microscope

c) Conservation de l'échantillon pour des analyses de laboratoire (PCR, ELISA-CSP)

Les carcasses de chaque spécimen ont été individuellement conservées dans les tubes Eppendorf étiquetés contenant du gel de silice. Ces carcasses ont par la suite été analysées au laboratoire pour l'identification des formes moléculaires des membres du complexe *An. gambiae*.

II.6.1.2 Collecte au pyrèthre

a) *Procédure de collecte et identification des moustiques*

La collecte des moustiques ayant passé la nuit à l'intérieur des maisons s'est faite au pyrèthre, entre 08h et 10h du matin, à l'intérieur des cases pour la plupart avec la toiture en chaume. Avant l'opération, toutes les denrées alimentaires ont été emportées à l'extérieur et les occupants priés de sortir. Après avoir fermé toutes les ouvertures (portes et fenêtres) et bouché les orifices susceptibles de favoriser la sortie des moustiques, des draps blancs ont été étalés sur toute la surface du sol pour faciliter la collecte des moustiques tombés (Service, 1977). Dans toute l'espace de la case, ainsi que les recoins sombres idéaux pour le repos des moustiques endophile-endophages, un insecticide à base de pyréthrinoides a été ensuite pulvérisé. L'enceinte a été maintenue close pendant 10 à 15 minutes. Au terme du temps imparti, portes et fenêtres ont été ouvertes et les moustiques tombés sur les draps collectés (Figure 28). Tous les moustiques du genre *Anopheles* collectés ont été identifiés au moyen d'une clé d'identification de Gillies & DeMeillon, (1968) et de Gillies & Coetzee, (1987).



Figure 28 : Séance d'examen des draps et collecte des moustiques (Tabue, 2014)

b) *Détermination du statut physiologique*

Les anophèles femelles ont été classifiés suivant leur état de réplétion (Figure 12) par examen de l'abdomen suivant le protocole de l'OMS (WHO, 1995). Ils ont été scindés suivant qu'ils étaient à jeun, gorgés, semi-gravides ou gravides.

c) Conservation des échantillons pour les analyses de laboratoire (ELISA-Repas de sang)

Les carcasses de chaque spécimen ont été individuellement conservées dans les tubes Eppendorf étiquetés contenant du gel de silice. Ces carcasses ont par la suite été analysées au laboratoire pour l'identification des formes moléculaires des membres du complexe *An. gambiae s.l* par PCR et l'origine des repas de sang a été déterminée chez les anophèles gorgés.

II.6.2. Traitement des anophèles au laboratoire

Des spécimens collectés sur appât humain, la tête-thorax d'une proportion a été coupée et placée individuellement dans les tubes Eppendorf pour la recherche de la protéine circumsporozoïtique. Quant aux restes de moustiques entiers, ils ont été placés dans d'autres tubes Eppendorf pour l'extraction de l'ADN afin de réaliser une PCR. Les anophèles gorgés collectés au pyrèthre ont été individuellement placés dans les tubes Eppendorf pour la recherche de l'origine des repas de sang.

II.6.2.1 PCR d'identification des membres du complexe *Anopheles gambiae*

a) Extraction et amplification de l'ADN

L'ADN a été extrait sur moustique entier d'après le protocole décrit par Morlais *et al.*, (2004) (matériel et réactifs utilisés en Annexe 2). Le moustique entier a été broyé dans 200 µl du CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) à 2% contenu dans un tube Eppendorf. Le rôle du CTAB est de fragmenter les bicouches lipidiques des membranes cellulaires et de dénaturer les protéines associées à l'ADN dans la chromatine. Par la suite, le broyat a été chauffé au bain-marie à 65°C pendant 5 minutes et 200 µl de chloroforme y ont été ajoutés pour précipiter les protéines dénaturées. Après centrifugation à 12000 tours/mn à température ambiante pendant 5 minutes, la phase aqueuse supérieure contenant l'ADN a été récupérée, et 200 µl d'isopropanol ont été ajoutés pour homogénéiser le mélange. Il s'en est suivi une centrifugation à 12000 tours/mn pendant 15 minutes pour précipiter l'ADN. L'isopropanol a par la suite été vidé et remplacé par 200µl d'éthanol à 70% pour laver le culot. Une centrifugation pendant 5 minutes à 12000 tours/mn a été effectuée et l'éthanol a été vidé, puis le tube séché au speed-vac pendant 5 minutes. Le culot d'ADN a été repris dans 20 µl d'eau distillée et incubé à 55°C pendant 5 minutes afin d'inhiber les DNAses éventuellement résiduelles, puis stocké à 20°C.

Pour réaliser la PCR, 1µl d'ADN de moustique a été ajouté à 24µl du milieu réactionnel dont la constitution est détaillée au Tableau III. La PCR débute par une activation de l'ADN

polymérase à 94°C pendant 10 min, suivit de 30 cycles constitués de chacun de 30 secondes de dénaturation à 94°C, 30 secondes d'hybridation à 50°C et 30 secondes d'élongation à 72°C , l'élongation finale s'en suit pendant 7 minutes à 72°C.

Tableau III : Milieu réactionnel pour la PCR d'indentification des membres du complexe *gambiae* (Fanello *et al.*, (2002).

Réactifs	Quantité (µl) x1 tube
dH ₂ O stérile	12,35 µl
5X tampon PCR	5,0 µl
dNTP (2.5 mM mix)	2,5 µl
UN (F, 25 pmol/µl) [GTGTGCCCTTCCTCGATGT]	1,0 µl
GA (R, 25 pmol/µl) [CTGGTTTGGTCGGCACGTTT]	1,0 µl
AR (R, 25 pmol/µl) [AAGTGTCTTCTCCATCCTA]	1,0 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1,0 µl
Taq DNA polymerase (5 U/µl)	0,15 µl
Total (Pour chaque 24 µl de milieu réactionnel, ajouter 1 µl de DNA)	24 µl

F et R indique l'orientation (Forward et Reverse).

b) Analyse des produits d'amplification

Le complexe *Anopheles gambiae* est composé de 8 espèces cryptiques : *An. gambiae* s.s., *An. coluzzii*, *An. arabiensis*, *An. bwambe*, *An. melas*, *An. merus*, *An. quadriannulatus* A et B. La méthode d'identification utilisée est celle de Fanello *et al.*, (2002). Cette technique permet l'identification simultanée des espèces du complexe *gambiae* en se basant sur les différences interspécifiques des séquences de nucléotides au niveau des espaces intergéniques (IGS) de l'ADN ribosomal (Figure 8). Les produits PCR obtenus par la méthode de Scott *et al.*, (1993) sont par la suite été digérés par une enzyme de restriction *Hha I* (*Hin 6 I* : *Haemophilus influenzae*).

La digestion par l'enzyme de restriction s'est faite en ajoutant 0,5 µl de l'enzyme à 10µl de produits d'amplification. Une incubation à 37°C pendant 3 à 24 h a été faite et il s'en est suivi une migration sur gel d'agarose à 2%. L'enzyme digère spécifiquement *An. gambiae* s.s. donnant principalement deux fragments (257pb et 110 pb) alors qu'*An. coluzzii* et *An. arabiensis* ne donnent qu'un seul fragments à 367bp et 292 pb respectivement (Figure 29). A chaque digestion, un fragment de 23bp est obtenu mais n'est pas visualisé sur le gel d'agarose. Les fragments issus de la digestion enzymatique ont été ensuite révélés sous lumière UV après migration dans un gel d'agarose à 2% contenant du Bromure d'Ethidium. Contrairement, un volume de 7,5 à 10 µl d'amplicon a été chargé par puits. Des marqueurs de poids moléculaires

ont été ajoutés dans l'un des puits. La migration dans un gel d'agarose à 2% contenant le Bromure d'Ethidium a été fait sous un courant de 100V pendant 1 heure. La visualisation des bandes s'est faite sous une lampe UV.

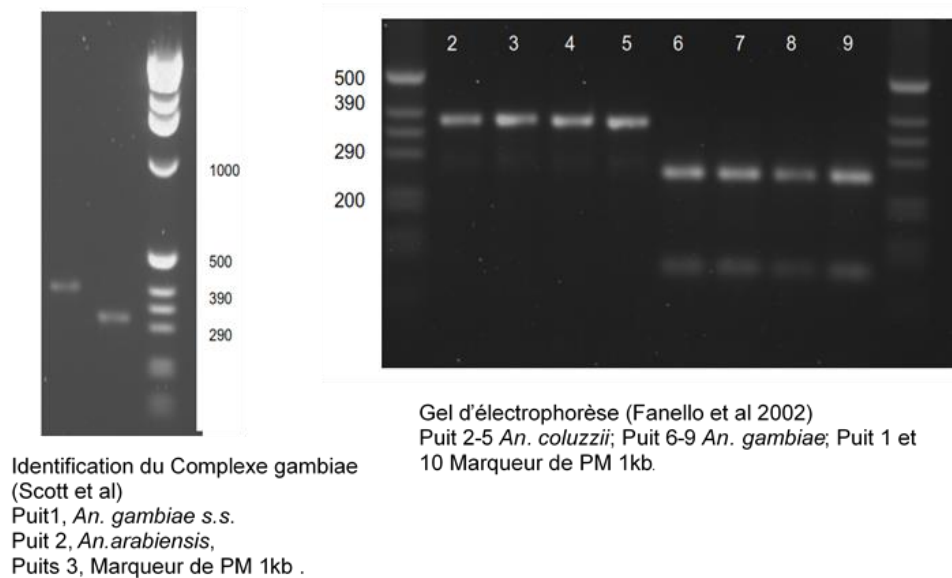


Figure 29 : Taille des bandes attendues après PCR et digestion enzymatique des espèces du complexe *An. gambiae*

II.6.2.2 Implication des vecteurs dans la transmission du paludisme

L'implication des anophèles dans la transmission du paludisme s'est faite par la technique immunologique ELISA. L'ELISA-CSP a permis d'identifier les anophèles infectés par *P. falciparum* et ELISA repas de sang a permis d'identifier la source de repas de sang chez les anophèles gorgés.

a) *ELISA-CSP pour la détection de Plasmodium falciparum chez les anophèles infectés*

Les anophèles, une fois au laboratoire ont été conservés à une température de -20°C. Les tête-thorax de ceux-ci ont été analysés par ELISA pour la détection de la protéine circumsporozoite du *P. falciparum* suivant le protocole de Burkot *et al.*, (1984) modifié par Wirtz *et al.*, (1987). L'interprétation des résultats a permis de déterminer le taux d'infection des anophèles. Cette technique permet de mettre en évidence la présence de la protéine circumsporozoïtique (CSP) exprimée à la surface des sporozoïtes chez un anophèle infecté. Seuls

les têtes-thorax sont utilisées, car ce sont les seules parties du corps du moustique susceptibles de contenir les formes infectantes du parasite.

Le principe consiste à coupler la protéine Circumsporozoïtique à des anticorps de capture préalablement fixés sur les parois de la plaque ELISA (Annexe 11). Ce complexe est ensuite révélé par un anticorps monoclonal couplé à la peroxydase et en présence du substrat de cette dernière, on obtient une réaction colorée qui révèle la présence du *Plasmodium* (Annexe 11).

Selon le protocole, un volume de 50µl de l'anticorps monoclonal de capture a été mis dans chaque puits de la plaque ELISA et incubé au moins 30 minutes ou toute la nuit à température ambiante. Pendant cette incubation, les moustiques à tester et les contrôles négatifs ont été préparés. Comme alternative, les échantillons peuvent être préparés et conservés à -20°C. La plaque a été par la suite couverte avec une autre plaque durant l'incubation pour éviter l'évaporation, puis le contenu des puits a été enlevé par aspiration et rempli avec le tampon de blocage pour une incubation d'une heure. Le contenu des puits a été enlevé par aspiration et 50µl de l'homogénat de moustique ont été ajoutés dans chaque puits. Un volume de 50 µl de solution du contrôle positif et négatif a été ajouté dans les puits dédiés, puis la plaque a été incubée pendant 2 heures à température ambiante. Juste avant la fin de la période d'incubation, le substrat ABTS a été préparé. Pour se faire, la solution A (ABTS de Kirkegaard Perry) et la solution B (peroxyde hydrogène) ont été mélangées dans la proportion 1:1. Cette solution a été préparée de façon à pouvoir mettre 100µl / puits. Pour une plaque par exemple, 10 ml (5 ml de la solution A et 5 ml de la Solution B) devront être préparés. Juste avant la fin de la période d'incubation, le conjugué (anticorps monoclonal-peroxydase) a été mélangé avec le tampon de blocage à raison de 0,05 µg / 50 µl de tampon. La solution était suffisante pour remplir 50µl/puits. Dans un tube Eppendorf, l'activité enzymatique a été au préalable confirmée en mélangeant 5µl de conjugué avec 100µl de ABTS. Le changement de coloration indiquait que la peroxydase et le substrat fonctionnaient. L'homogénat a été enlevé, les puits lavés deux fois avec le PBS-Tween en remplissant et vidant les puits. Puis, 50µl du conjugué ont été ajoutés dans chaque puits, et incubés pendant 1heure. Après avoir enlevé le conjugué, les plaques ont été lavées trois fois avec le PBS-Tween et par la suite, 100 µl ABTS ajoutés par puits. Après incubation pendant 30 ou 60 minutes, la coloration a été visualisée et la densité optique (DO) déterminée à 405 ou 414 nm respectivement.

La lecture des plaques au spectrophotomètre à 405 ou 414 nm a permis de déterminer la DO pour chaque puits.

Soit:

A : la DO d'un puits d'une plaque donnée.

\bar{A} : la moyenne des DO des puits des contrôles négatifs

n : nombre d'échantillons testés

V: la variance

δ : l'écart type.

$$V = \sum_1^n \frac{(A-\bar{A})^2}{n} \quad \text{et} \quad \delta = \sqrt{V}$$

Le seuil de positivité pour chaque plaque est égal à la moyenne des DO des puits du contrôle négatifs+ 2 Ecart-type. En d'autres termes, l'échantillon du puits correspondant à la DO de A est positif si $A \geq \bar{A} + 2\delta$.

b) Détermination de l'origine du repas de sang par ELISA-Repas de sang chez les anophèles gorgés

Les hôtes sur lesquels les anophèles gorgés ont pris leur repas de sang ont été déterminés par la technique d'Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) suivant le protocole de Beier *et al.*, (1988) modifié par Lardeux *et al.*, (2007). Cette technique est basée sur la réaction antigène-anticorps dont le principal but visé est la détermination des préférences trophiques du moustique. L'interprétation des résultats a permis de déterminer le taux d'anthropophilie des anophèles.

Le principe repose sur la persistance des immunoglobulines (IgG) de l'hôte dans le contenu stomacal du moustique plusieurs jours après l'ingestion d'un repas de sang (Tesh *et al.*, 1988). Ces IgG, antigènes de l'hôte sur lequel le moustique s'est gorgé, sont ensuite reconnus par des Anticorps (Ac) dirigés spécifiquement contre les IgG d'un certain nombre d'hôtes potentiels (Hommes, Bœuf, Mouton, Cheval et Porc...) (matériel et réactifs en Annexe 3c). Ces Ac anti-IgG sont couplés à la peroxydase, ce qui permet la détection spécifique des complexes IgG-Ac anti IgG par addition du substrat de l'enzyme (Figure 30). Le développement de la réaction colorée qui s'ensuit permet ainsi de mettre en évidence l'origine du repas de sang pris par le moustique gorgé.

L'abdomen de chaque anophèle gorgé a été macéré dans 800 μ l de tampon PBS (Phosphate Buffer Saline) 0.01 M de pH 7.2. Le contenu des tubes Eppendorf a été homogénéisé et laissé au repos pendant 1h. Des plaques de 96 puits ont été sensibilisées avec le sang provenant des anophèles gorgés (50 μ l/puits, une colonne pour un moustique) et incubées pendant 03 h à

température ambiante. Le contrôle positif était constitué de sérum d'animaux (1/100 dans le PBS) dans la colonne 12 et le contrôle négatif était le PBS dans la colonne 1 (Figure 31). La plaque a ensuite été vidée et saturée avec 200 µl/puits de solution de tampon de blocage (caséine : 5 g; NaOH [0.1 N]: 100 ml; PBS : 900 ml; Tween 20 : 250 µl; thimerosal: 0.1 g; phenol red : 0.02 g), puis incubée pendant 01 h à température ambiante. Les plaques ont été par la suite lavées deux fois au tampon PBS/Tween 20 (0.05%) et 50 µl/puits de la peroxydase conjuguée à l'anticorps anti-IgG de chaque animal testé ont été ajoutés. La plaque a été par la suite incubée à température ambiante pendant 01 h, puis vidée et lavée 04 fois avec le PBS/Tween. Par la suite, 100 µl du substrat de la peroxydase ont été ajoutés à chaque puits et incubés pendant 30 minutes dans l'obscurité et à température ambiante. Un volume de 50 µl/puits d'acide sulfurique 4N a été ajouté afin de stopper la réaction et l'absorbance mesurée à 450 nm au spectrophotomètre.

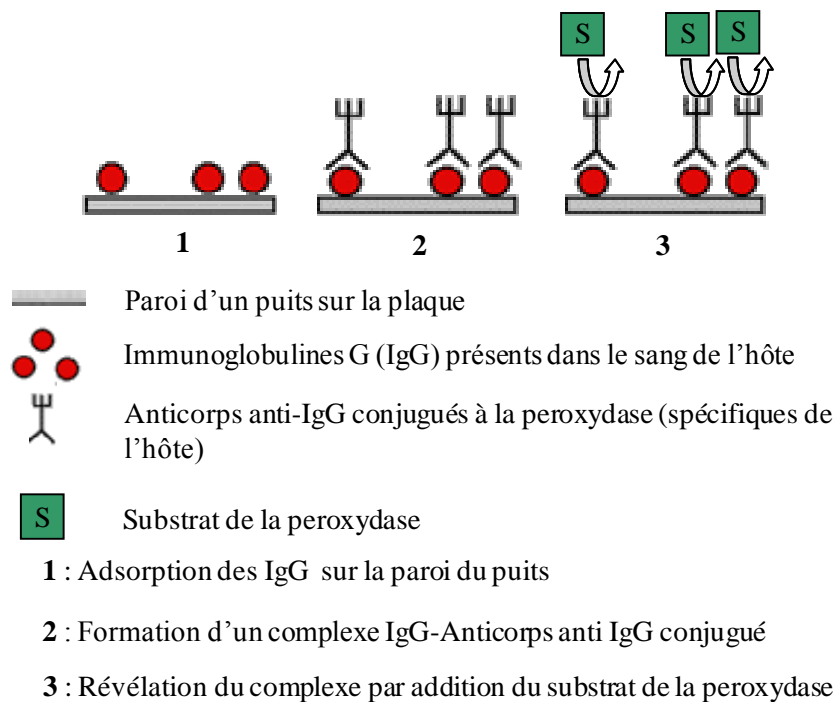


Figure 30 : Schéma du principe de l'ELISA repas de sang.

L'interprétation des résultats ELISA-Repas de sang se fait après la lecture des plaques au spectrophotomètre à 450 nm, ce qui permet de déterminer la DO pour chaque puits.

Soit :

A : la DO d'un puits d'une plaque donnée.

\bar{A} : la moyenne des DO des puits des contrôles négatifs

n: nombre d'échantillons testés

V : la variance

δ : l'écart type.

$$V = \sum_1^n \frac{(A-\bar{A})^2}{n} \text{ et } \delta = \sqrt{V}$$

Le seuil de positivité pour chaque plaque est fixé à la moyenne des DO des puits du contrôle négatifs+ 2 Ecart-type. En d'autres termes, l'échantillon du puits correspondant à la DO de A est positif si $A \geq \bar{A} + 2\delta$.

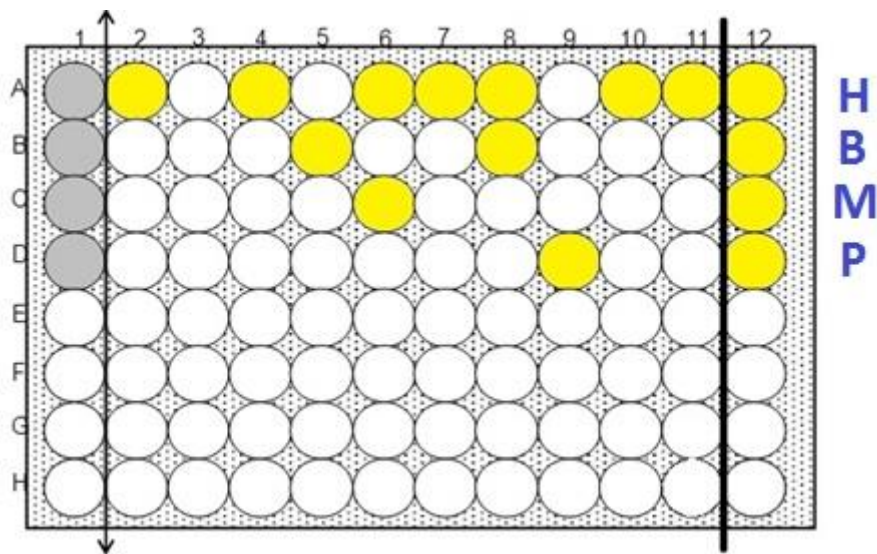


Figure 31: Plaque typique d'ELISA repas de sang.

La plaque présentant les résultats de l'analyse des repas de sang de 10 moustiques (colonnes 2 à 11). Colonne 1: témoins négatifs; Colonne 12 : témoins positifs : H (homme); B (bœuf); M (mouton); P (porc). Sur cette plaque, on voit que les moustiques 2, 4, 7, 10 et 11 se sont gorgés uniquement sur homme; le moustique 9 s'est gorgé sur le porc; le moustique 5 a pris son repas sur bœuf; le moustique 6 a pris son repas sur homme et mouton (repas mixte) et le moustique 8 s'est gorgé à la fois sur homme et sur bœuf (repas mixte).

II.7. Prévalence des espèces plasmodiales dans la population d'étude

II.7.1. Recensement des ménages

I.7.1.1. Sélection des ménages

Le tirage de l'échantillon des ménages à enquêter dans chaque village s'est effectué suivant un tirage systématique randomisé. Pour fixer le nombre de ménages à enquêter par

village, la méthode d'allocation proportionnelle a été utilisée en tenant compte de la taille des ménages de chaque village. Dans chaque village, tous les ménages ont été au préalable recensés et listés sur une fiche.

Pour chaque village, le nombre total de ménages M est connu. On connaît également le nombre de ménages à enquêter, soit m ce nombre qui est proportionnel à la taille du village en ménages.

Pour tirer les m ménages dans chaque village, on doit :

- calculer, dans un premier temps, le pas de tirage qui est donné par la formule $p=M/m$ (ce résultat n'est pas arrondi);
- choisir ensuite un nombre au hasard compris entre 1 et $[p]$ (partie entière de p), soit x ce nombre;
- Commencer par le ménage ayant le numéro séquentiel x ; $[x + p]$; $[x + 2p]$; $[x + 3p]$;; jusqu'à $[x + (m - 1)p]$ comme échantillon.

NB: $[]$ est la fonction partie entière. Exemple : $[3]=3$, $[4,5]=4$, $[12,9]=12$, $[6,2]=6$.

Le choix du nombre au hasard entre 1 et la partie entière de p se faisait de plusieurs manières. On pouvait, par exemple, demander à un enfant qui sait compter de choisir un nombre dans l'intervalle concerné, utiliser un tirage sur des papiers où l'on a pré inscrit les nombres de 1 à la partie entière de p .

I.7.1.2. Recrutement des enfants et collecte des informations dans les ménages

Dans chaque ménage retenu, tous les enfants appartenant à la cible (06 à 120 mois) ont été recrutés. Un questionnaire (Annexe 4) a été administré à l'un des parents de chaque enfant, et avait pour but d'identifier les enfants, de fournir des informations sur la possession et l'utilisation des MILDA. Ce questionnaire a été administré sans remplacement de refus. La collecte des données para cliniques concernait la température axillaire, un prélèvement d'une goutte de sang pour la confection de la goutte épaisse et du frottis sanguin, ainsi que la collecte de sang sur papier filtre Whatman N°3 pour l'identification des espèces plasmodiales en cas d'infection. Chez les enfants fébriles (température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$) ou ayant un antécédent de fièvre dans les deux semaines précédant l'étude, un test de diagnostic rapide (TDR) du paludisme a été effectué. Un traitement à base d'Artésunate-Amodiaquine a été administré gratuitement aux enfants ayant un TDR positif.

II.7.2. Prélèvement et traitement du sang

Dans le but de déterminer la prévalence du paludisme et/ou de déterminer la densité parasitaire, les gouttes épaisses et les frottis ont été réalisés à partir du sang périphérique. Muni de vaccinostyle stérile, l'annulaire des enfants a été piqué après avoir au préalable nettoyé le doigt avec du coton imbibé d'alcool. La goutte de sang a été recueillie sur des lames porte-objet et sur papier filtre afin de déterminer par PCR les espèces plasmodiales en cas d'infection.

II.7.2.1 Confection et coloration des lames

Sur la même lame porte-objet étaient réalisés le frottis sanguin et la goutte épaisse. Une goutte de sang a été déposée à l'extrémité inférieure de la lame porte-objet préalablement étiquetée. A l'aide du bout d'une autre lame, des mouvements circulaires étaient effectués pour défibriner ce sang et l'étaler sur une surface d'environ 1cm. Une autre goutte de sang a été déposée à environ 1cm de la goutte épaisse, puis étalé sur une surface d'environ 2,5cm de long à l'aide d'une lame à extrémité bien polie, afin de réaliser un frottis sanguin. Après leur confection, les lames étaient séchées à l'air libre sur un portoir à lame, puis colorées par la technique May-Grünwald-Giemsa.

- ***Principe***

Il repose sur l'action combinée de deux colorants neutres : le May-Grünwald (contenant un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, le bleu de méthylène) et le Giemsa (contenant de l'éosine, et un colorant basique, l'azur de méthylène) qui se fixent sélectivement sur les constituants cellulaires. L'éosine colore sélectivement les éléments cellulaires basiques (cytoplasme des hématies en rose, le noyau du *Plasmodium* en bleu rosâtre) et le bleu de méthylène ou l'azur de méthylène colore en bleu les éléments cellulaires acides (ADN, cytoplasme des lymphocytes et le *Plasmodium*). Le Giemsa provoque également l'hémolyse des hématies non fixées de la goutte épaisse et la libération des parasites.

- ***Méthode***

Après séchage, seule la partie de la lame portant le frottis du sang périphérique était introduite dans du méthanol pur pour fixer les cellules et séchée pendant environ 5 minutes. Elle a été ensuite colorée par une solution de May-Grünwald diluée à 50% avec de l'eau tampon pendant 10 minutes. Après rinçage du frottis avec l'eau du robinet pour éliminer l'excès du colorant, goutte épaisse et frottis ont été colorés par la solution de Giemsa diluée à 10% avec l'eau tampon, pendant 10 minutes, puis rincés avec l'eau du robinet et séchés à l'air libre. La

lecture des lames a été effectuée au microscope optique à l'objectif 100X en utilisant l'huile à immersion. Pour les lames positives (présence de *Plasmodium*), ont été précisés : les différents stades évolutifs du parasite et la densité parasitaire.

II.7.2 Collecte du sang sur papier filtre

Les papiers filtres (Whatman® N°3) ont été passés à autoclave, étiquetés, imbibés des gouttes de sang des enfants et séchés à l'air libre. Ils ont ensuite été enveloppés individuellement dans des sachets en plastique avant d'être conservés à 4°C au réfrigérateur. Ce sang a servi par la suite à l'identification des espèces plasmodiales par la méthode PCR.

II.7.3. Détermination de la densité parasitaire

La présence ou non des stades sanguins de *Plasmodium* a été vérifié par la goutte épaisse. La densité parasitaire a été déterminée en nombre de formes asexuées de *Plasmodium* par microlitre de sang (nombre de parasite / µl de sang) par la formule suivante (Cheesbrough, 2006) :

$$\text{Parasitémie/ } \mu\text{L de sang total} = \frac{\text{Nombre de parasites compté pour 100 GB} \times \text{Nombre de GB/ } \mu\text{L de sang total}}{\text{Nombre de GB comptés au niveau de la goutte épaisse (100)}}$$

Exemple

Nombre de Globule blanc compté chez un patient : 4000/µl

Nombre de parasite compté pour 100 Globules blanc : 680

$$\text{Densité Parasitaire (DP)/}\mu\text{l de sang} = \frac{4000 \times 680}{100} = 27200 \text{ parasites /}\mu\text{l}$$

II.7.4. Extraction de l'ADN du *Plasmodium*

Afin d'identifier des espèces plasmodiales, une extraction de l'ADN a été faite par la méthode de Chelex. Un échantillon a été bouilli dans une suspension d'eau stérile, de saponine et de Chelex. Le processus d'ébullition perturbe la membrane cellulaire, la saponine détruit les protéines cellulaires, et libère l'ADN. Le Chelex chélate les molécules chargées positivement et laisse en suspension celles chargées négativement. La suspension est ensuite centrifugée, séparant la résine et les débris cellulaires du surnageant contenant l'ADN.

- **Protocole**

L'ADN a été extrait à partir des gouttes de sang séchées sur du papier filtre suivant la méthode Chelex (Plowe *et al.*, 1995). Pour chaque échantillon, la surface du papier filtre contenant du sang a été découpée et introduite dans un tube Eppendorf stérile à l'aide des pinces stériles. Un volume de 1 mL de saponine 0,5% diluée dans du PBS 1× a été ajouté dans chaque tube contenant un échantillon pour permettre la lyse des membranes des globules rouges et du parasite. Après avoir agité plusieurs fois, ces tubes ont été conservés à +4°C pendant toute la nuit. Une fois le surnageant brun formé dans chaque tube enlevé, 1mL de PBS 1× a été ajouté dans chacun d'eux afin d'inhiber l'hémoglobine. Les tubes ont été agités de nouveau et réfrigérés à +4°C pendant 30 minutes. Parallèlement, 150 µL d'eau stérile plus 50 µL de Chelex 20% dissout dans le PBS 1× ont été introduits dans une autre série de tube Eppendorf, et chauffés dans un bain marie à 100°C pendant 30 minutes. En utilisant une pince stérile (stérilisation de la pince entre deux échantillons), les papiers filtres contenus dans la première série de tube ont été délicatement transférés dans les tubes Eppendorf contenant le Chelex chaud. Après agitation vigoureuse pendant 30 secondes, les tubes ont été replacés dans le bain marie pendant 10 minutes, puis agités de nouveau. Après incubation, les tubes ont été centrifugés à 10000 RPM (*revolution per minute*) pendant 2 minutes, et le surnageant recueilli a été transféré dans une autre série de tube préalablement étiquetées. Ces nouveaux tubes ont été à leur tour centrifugés à 10000 RPM pendant 2 minutes et le surnageant issu de cette dernière centrifugation a été recueilli à l'aide d'une micropipette. Ce surnageant contenant l'ADN a été ensuite transféré dans une nouvelle série de tubes Eppendorf étiquetés et conservés à -20°C jusqu'à utilisation.

II.7.5. Amplification de l'ADN du *Plasmodium*

L'amplification de l'ADN des différentes espèces plasmodiales a été faite par une PCR nichée ou *Nested PCR* (2 tours, à savoir Nest-1 et Nest-2) comme décrit par Snounou *et al.*, (1993). Pour la réaction de Nest-1, le volume total du milieu réactionnel était de 25 µL par échantillon et contenait 2 µL d'ADN, 0,5 µL de chaque amorce (rPLU5 et rPLU6) spécifique au genre *Plasmodium* et au gène codant pour la petite sous-unité de l'ARN ribosomal (SSU rARN) à une concentration de 250 mM, 12,5 µL de tampon de PCR (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂ (pH 8,3), 0,1 mg/mL), 0,4 unités/µL d'enzyme Tag DNA polymérase (une unité est défini comme la quantité d'enzyme nécessaire pour incorporer 10 nmol de dNTP dans la chaîne en cours de synthèse en 30 minutes à 75°C), 0,2 mM de chaque dNTPs (dATP, dCTP, dTTP,

dGTP) et 9,5 µL d'eau distillée. La réaction de Nest-1 a été effectuée dans un Thermocycleur programmable de type PTC 100 (Gene Amp® PCR system 9700, Applied Biosystems, MD, USA), suivant les étapes ci-dessous :

- Etape 1 : Dénaturation initiale à 95°C pendant 5 min
- Etape 2 : Hybridation à 58°C pendant 2 min;
- Etape 3 : Elongation à 72°C pendant 2 min;
- Etape 4 : dénaturation à 94°C pendant 1min;
- Etape 5 : Répéter 24 fois les étapes 2 à 4, puis l'étape 2 et enfin l'étape 3 pendant 5 min. Le refroidissement après le cycle d'amplification se fait à une température de 20°C (Annexe 8)

Tableau IV : Séquences d'amorce pour l'amplification (Snounou *et al.*, 1993).

Amorces	Séquences	PM (bp)	Spécificité des amorces
rPLU5	5'CCTGTTGTTGCCTTAAACTTC 3'	1200	Genre <i>Plasmodium</i>
rPLU6	5'TTAAAATTGTTGCATTA AACG3'		
rFAL1	5'TAAACTGGTTTGGGAAAACCAATATATT3'	205	Espèce <i>P.f</i>
rFAL2	5'ACACAATGAACTCAATCATGACTACCCGTC3'		
rMAL1	5'ATAACATAGTTGTACGTTAAGAATAACCGC3'	144	Espèce <i>P.m</i>
rMAL2	5'AAAATTCCCATGCATAAAAAATTATACAAA3'		
rOVA1	5'ATCTCTTTTGCTATTTTTTAGTTTGGAGA3'	800	Espèce <i>P.o</i>
rOVA2	5'GGAAAAGGACACATTAATTGTATCCTAGTG3'		
rVIV1	5'CGCTTCCTAGCTTAATCCACATAACTGATAC3'	120	Espèce <i>P.v</i>
rVIV2	5'ACTTCCAAGCCGAAGCAAAGAAAAGTCCTTA3'		

Pb : paire de base; PM : Poids Moléculaire

Le produit d'amplification de Nest-1 (2 µL) a été utilisé comme échantillon pour une seconde réaction d'amplification (Nest-2) dans laquelle la présence de chaque espèce de *Plasmodium* a été individuellement testée. Chaque échantillon issu de la première amplification a été étudié séparément dans 4 tubes différents. Dans chaque tube, la présence particulière de l'une des quatre espèces de *Plasmodium* a été testée en utilisant les amorces spécifiques à la région codante pour la sous unité 18s de l'ARN ribosomal de chaque espèce : rFAL1/rFAL2 (205 pb) pour *P. falciparum*, rVIV1/rVIV2 (120 pb) pour *P. vivax*, rMAL1/rMAL2 (144 pb) pour *P. malariae* et rOVA1/rOVA2 (800 pb) pour *P. ovale* (Tableau IV). Pour chaque réaction d'amplification, un échantillon contrôle négatif (contenant de l'eau à la place de l'ADN) et un échantillon contrôle positif ont été inclus. La procédure

d'amplification de Nest-2 était similaire à celle de Nest-1 à l'exception de l'étape 5 répétée plutôt 30 fois.

II.7.6. Analyse des produits d'amplifications

En milieu basique, les fragments d'ADN sont chargés négativement. Placés dans un champ électrique, ils vont se déplacer vers l'anode, mais leurs charges respectives étant à peu près équivalentes, c'est leur masse moléculaire qui va régler leur vitesse de déplacement à travers les mailles du gel dans lequel ils ont été placés. Plus les fragments sont petits, plus ils vont migrés rapidement et donc plus loin de leur point de départ.

- ***Procédure expérimentale***

Une masse de 10 g d'agarose dans 400 mL de tampon TBE 1× (tris-base, acide borique, NaEDTA) a été préparée pour un gel d'agarose de 2,5% P/V (Sambrook *et al.*, 1989). De la solution transparente obtenue après ébullition, 12µL de Bromure d'Ethidium ont été ajoutés, puis, l'ensemble a été coulé dans un moule contenant des peignes. Après solidification, le gel a été placé dans l'appareil à électrophorèse contenant le tampon de migration (TBE 1×).

Chaque produit d'amplification de Nest-2 (10 µ L) a été mélangé à 2,5 µL de tampon de charge (0,5% sucrose, 50 mM EDTA-pH2, 0,1% bleu de bromophénol, 10% ficoll), puis chaque échantillon a été introduit dans un puits. Les contrôles positifs et négatifs, ainsi que les marqueurs de poids moléculaires ont été introduits dans les puits correspondants pour déduire la taille des fragments d'ADN en fonction de leurs distances de migration sur le gel. Les électrodes de l'appareil à électrophorèse ont été branchées à un générateur de courant électrique et la migration s'est faite à 100 volts pendant une heure. A la fin de la migration, la révélation du gel s'est faite par visualisation sous transilluminateur à UV. La taille des différentes bandes a permis l'identification des différentes espèces de *plasmodium* à savoir *P. falciparum* = 205 pb ; *P. malariae* = 144 pb; *P. ovale* = 800 pb et *P. vivax* = 120 pb.

II.7.7. Détermination du seuil pyrogène

Le seuil pyrogène a été déterminé par la différence des densités parasitaires entre les cas de fièvre et les asymptomatiques dans une population donnée suivant la méthode de Armstrong-Schellenberg *et al.*(1994). Pour chaque classe (ou tranche) de densité parasitaire définie par la limite inférieure de la classe, la sensibilité et la spécificité peuvent être estimées (Tableau V).

La sensibilité est égale au rapport de la somme du nombre de cas de fièvre attribuable au paludisme ($D \times AF_d$) dans la classe de densité parasitaire égale ou supérieure que la classe considérée, divisée par le total de cas de fièvre attribuable au paludisme.

La spécificité pour une classe de densité parasitaire donnée est le rapport du nombre de cas de fièvre non attribuable au paludisme de cette classe divisé par le total de cas non attribuable au paludisme. La sensibilité et la spécificité sont déterminées d'après les formules suivantes :

$$\text{Sensitivité} = (D \times AF_d) / (\sum [D(R_d - 1) / R_d])$$

$$\text{Spécificité} = (D - [D \times (R_d - 1) / R_d]) / (N - \sum [D(R_d - 1) / R_d])$$

R_d = odd ratio

AF_d = Fraction attribuable estimée à partir du odds ratio ($AF_d = (R_d - 1) / R_d$)

D = nombre de fièvre

d = classe de densité parasitaire

N = nombre total de cas de fièvre

Le seuil pyrogène choisi pour définir les cas cliniques de paludisme est la classe de densité parasitaire assurant le meilleur compromis entre la spécificité et la sensibilité.

Tableau V : Odd ratio des fièvres et la fraction attribuable au paludisme par classe de densité parasitaire

	N Asymptomatique (T<37,7°C)	N Fièvre (T>37,7°C)	Odds ratio (R _d)	N fièvre attribuable au paludisme (D x AF _d)	N fièvre non attribuable au paludisme [D x (1- AF _d)]
DP = 0	A	B	1	0	B
DP classe d ₁	C ₁	D ₁	$R_{d1} = (D_1/C_1) \cdot (B/A) = (AD_1)/(C_1B)$	$D_1 \times (R_{d1} - 1) / R_{d1}$	$D_1 - [D_1 \times (R_{d1} - 1) / R_{d1}]$
DP classe d ₂	C ₂	D ₂	$R_{d2} = (AD_2)/(C_2B)$	$D_2 \times (R_{d2} - 1) / R_{d2}$	$D_2 - [D_2 \times (R_{d2} - 1) / R_{d2}]$
DP classe d _i	C _i	D _i	$R_{di} = (AD_i)/(C_iB)$	$D_i \times (R_{di} - 1) / R_{di}$	$D_i - [D_i \times (R_{di} - 1) / R_{di}]$
DP classe d _n	C _n	D _n	$R_{dn} = (AD_n)/(C_nB)$	$D_n \times (R_{dn} - 1) / R_{dn}$	$D_n - [D_n \times (R_{dn} - 1) / R_{dn}]$
Total		N		$\sum [\Delta(P_{\delta}-1) / P_{\delta}]$	$N - \sum [D(R_d-1) / R_d]$

AF_d = (R_d - 1) / R_d : Fraction attribuable estimée à partir du odds ratio R_d, Si R_d < 1, alors AF_d = 0

DP = Densité parasitaire

II.8. Paramètres épidémiologiques du paludisme

Une évaluation de l'intensité et de l'état de la transmission du paludisme est une condition préalable à toute prévention efficace contre le paludisme. A chaque niveau, plusieurs facteurs peuvent influencer la transmission du paludisme par l'anophèle à l'homme. L'estimation

quantitative de la transmission repose sur un certain nombre d'indices mathématiques obtenus à partir des données entomologiques et parasitologiques recueillies.

II.8.1. Paramètres entomologiques de l'épidémiologie du paludisme

- L'*agressivité des moustiques* (ma) est le nombre de piqûre par personne et par nuit (p/h/n).
- *Taux de parturité*. L'âge physiologique d'un moustique se décline en ce qu'il soit nullipares ou pare. Ce paramètre représente la proportion des femelles potentiellement dangereuses car ayant pris au moins un repas de sang sur l'homme.
- *Taux anthropophilie* (TA) : c'est pour une population d'une espèce de vecteur gorgée, la proportion de celle s'étant nourrie sur un hôte humain.
- *Taux d'infection* (TI) : c'est la proportion d'*Anopheles* trouvée porteuse de la protéine Circumsporozoitique du *Plasmodium* par la méthode ELISA.
- *Taux inoculation entomologique (TIE)* : c'est le produit du nombre de piqûres infectantes reçues par un individu pendant une période de temps donné. Il s'exprime en nombre de piqûre infectante/homme/unité de temps (pi/h/n).

II.8.2. Paramètres parasitologiques de l'épidémiologie du paludisme

I.8.2.1. Indices parasitologiques

- **La parasitémie ou densité parasitaire(DP)** est le nombre de parasites/ μ l de sang et a été déterminée par la formule suivante (Cheesbrough, 2006) :

$$\text{Parasitémie/ } \mu\text{L de sang total} = \frac{\text{Nombre de parasites compté pour 100 GB} \times \text{Nombre de GB/ } \mu\text{L de sang total}}{\text{Nombre de GB comptés au niveau de la goutte épaisse (100)}}$$

- **Indice plasmodique** : c'est, dans une population examinée, le pourcentage de sujets dont les étalements sanguins révèlent la présence de *Plasmodium*. Cet indice, chez les sujets de moins d'un an, peut constituer une bonne indication de l'intensité de la transmission (Boyd, 1949).
- **Indice gamétocytaire** : c'est dans la population examinée, la proportion de sujet dont les étalements sanguins révèlent la présence de gamétocytes. Il est un des éléments permettant de quantifier le « réservoir de parasite » humain. Le degré d'infection du « réservoir humain », pour le vecteur anophélien, est fonction de la densité des gamétocytes et du sexe ratio.

- **Les indices d'infection spécifique** : c'est pour une espèce plasmodiale donnée, la proportion de sujets dont les étalements sanguins révèlent la présence de l'espèce plasmodiale en question.

I.8.2.2. Endémicité palustre

- **La prévalence** : correspond au nombre total de cas de maladies ou d'infections existant dans la population à un moment donné.
- **Nombre de cas de fièvre** : C'est le nombre de personne dans la population enquêtée ayant une température axillaire supérieure ou égale à 37,5%.
- **Seuil pyrogène**, C'est la densité parasitaire à partir de laquelle toute fièvre peut être considérée comme un cas de paludisme.
- **Taux d'utilisation de la MILDA** : C'est dans une population enquêtée, la proportion de personne ayant dormi sous une MILDA la nuit précédent l'enquête
- **Taux de possession de la MILDA** : C'est la proportion de ménage ayant au moins une MILDA
- **Taux d'utilisation universelle de la MILDA** : C'est dans une population donnée, la proportion de ménages ayant suffisamment de MILDA pour un ratio d'une MILDA pour 2.
- **Un ménage** ordinaire est un ensemble composé d'une ou de plusieurs personnes, apparentées ou non, vivant dans un ou plusieurs logements de la même concession. Ces personnes prennent le plus souvent leurs repas en commun et mettent en commun tout ou une partie de leurs ressources pour subvenir aux besoins courants ou vitaux. Elles reconnaissent l'autorité d'une seule personne appelée chef de ménage.

II.9. Analyse des données

II.9.1. Variables considérées pour les études entomologiques

Les variables statistiques mesurées pour les collectes entomologiques incluaient :

- Site de collecte** : Lieu de collecte, date, heure, espèces vectrices.
- Taux d'agressivité (ma)** : C'est le nombre moyen de piqûre de moustique reçu par homme par nuit
- Taux anthropophilie (TA)** : c'est pour une population d'une espèce de vecteur gorgée, la proportion de celle s'étant nourrie sur un hôte humain.
- Cycle de piqûre** : variation du taux d'agressivité par heure de collecte.

- e. **Taux de parturité** a été calculé comme le rapport des moustiques trouvés pares et de la somme de moustique pares et nullipares
- f. **Taux d'infection ou Taux d'antigène circumsporozoïtique** a été calculé comme la proportion de moustique trouvé porteur de l'antigène Circumsporozoïte par le test ELISA tandis que **l'indice sporozoïtique** est le rapport du nombre de moustique trouvé porteur de l'antigène circumsporozoïte sur le nombre total de moustique analyse par le test ELISA
- g. **Taux inoculation entomologique (TIE)** a été calculé comme le produit du taux d'agressivité (ma) et indice sporozoïtique comme suite :

$$\text{TIE} = \text{Taux d'infection} \times \text{indice sporozoïtique}$$
- h. **Chi-deux (χ^2)** a été utilisé pour comparer les différentes variables entre les DS, **le odds ratio** pour évaluer l'effet de l'utilisation de la moustiquaire sur la prévalence du paludisme et **le coefficient de Spearman** pour évaluer l'effet de la résistance des vecteurs à la deltaméthrine 0.05% sur le taux d'infection, la parturité, l'indice gamétocitaire
- i. **L'analyse Log-Probit** (Finney, 1952; Joly & Giner, 1993) a été utilisée pour caractériser la réponse de la population d'*An. gambiae* s.l. à l'insecticide.

II.9.2. Variables considérées pour les études parasitologiques

Ces variables ont été calculées et comparées entre les tranches d'âges et les différents sites d'études en utilisant le Chi deux. Il s'agissait de :

- a) *Densité parasitaire*
- b) *Indice plasmodique*
- c) *Indice gamétocytaire*
- d) *Indice d'infection spécifique*

Le logiciel EpiInfo 3.5.3 a servi de base de données pour la collecte des données parasitologiques ainsi que les données issues de l'enquête auprès des ménages sur la possession des MILDA. Le logiciel SPSS 17.0 a été utilisé pour les tests de Corrélation de Spearman et pour les tests de Chi deux. L'analyse de toutes les données a été faite avec un seuil de signification de 5%.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1 Sensibilité d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05%

Il s'agissait d'identifier les villages où *An. gambiae* s.l. était résistant à la deltaméthrine 0,05 % de ceux où il était sensible suivant les critères de l'OMS (WHO, 2013), et de comparer le niveau de sensibilité/résistance. Les critères de classification de l'OMS ont permis de classer la sensibilité d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05% dans les différents villages des trois districts, sur les deux années d'étude. Globalement l'on a observé une résistance élevée d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine. Cette résistance est susceptible d'entraîner une augmentation de la longévité des vecteurs du fait du manque d'efficacité des moyens de prévention à base d'insecticides. Il s'en suit une accumulation d'une population vectrice pouvant se traduire par une augmentation de la transmission du paludisme.

III.1.1 Sensibilité d'*An. gambiae* s.l. dans le District de santé de Garoua

Les enquêtes sur la sensibilité d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05% ont été menées dans les 17 villages du DS de Garoua de 2013 à 2014. En 2013, les tests n'ont pu être réalisés que dans 15 villages. La rareté des larves n'a pas permis la réalisation de ces tests dans les villages d'Ouro Hourso I et Lainde I. Tous les villages étaient résistants aussi bien en 2013 qu'en 2014. Cette résistance était importante en 2013 à Kanadi II (27%), Plateau (42%), kollere (43%), Ouro hourso II (46%), Djamboutou I (51%), Djamboutou II (54%), alors qu'en 2014 c'est dans les villages de Ouro hourso I (20%), Ouro hourso II (32%), kollere (34%), Kanadi II (40%), Kanadi I (47%) que celle-ci était importante (Tableau VI). La fluctuation au niveau de la sensibilité des vecteurs d'une année à l'autre était importante ($\chi^2 = 31,6$; ddl=12; p=0,002) et montrait des différences plus prononcées d'une année à l'autre dans les villages de Kanadi I, Lainde II, Londerou et Mboum Aviation. Cette fluctuation serait due non seulement à la dynamique de la population vectrice, mais également aux pratiques agricoles (Chouaibou *et al.*, 2008; Yadouleton *et al.*, 2009). En effet, la plupart des villages du DS étaient situés en zone périurbaine où les activités agricoles sont très intenses, avec les berges du fleuve Bénoué colonisées tout au long de l'année.

Le taux de mortalité de la population d'*An. gambiae* s.l. exposée à la deltaméthrine 0,05% dans chaque village des trois districts est représenté dans le Tableau VI ainsi que les kdT_{50} et kdT_{95} .

Tableau VI : Résultat des tests de sensibilité OMS d'*An.gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05% par districts de santé

Villages	2013					2014				
	Mt	No	TKd ₅₀ [IC]	Tkd ₉₅ [IC]	Statut	Mt	No	TKd ₅₀ [IC]	Tkd ₉₅ [IC]	Statut
DS Garoua										
Bocki	76	71	27 [23-29]	76 [65-95]	R	80	20	37 [33-43]	76 [59-122]	R
Djamboutou I	51	102	51 [46-58]	170 [131-248]	R	50	66	63 [55-78]	207 [145-371]	R
Djamboutou II	54	123	38 [35-40]	114 [97-142]	R	69	113	33 [30-35]	116 [96-149]	R
Kanadi I	86	90	26 [8-38]	128 [98-254]	R	47	102	114 [85-179]	997 [448-3090]	R
Kanadi II	27	100	57 [50-66]	240 [169-413]	R	40	99	74 [61-105]	623 [302-3070]	R
Kollere	43	100	101 [77-204]	547 [248-5127]	R	45	103	139 [94-469]	887 [321-24600]	R
Lainde I	NR	NR	NR	NR	NR	34	44	69[57-102]	223 [135-794]	R
Lainde II	73	92	34 [30-37]	117 [95-160]	R	48	102	42 [39-46]	127 [105-167]	R
Londerou	59	81	35 [32-38]	83 [72-101]	R	80	41	25 [22-27]	51 [45-60]	R
Mbilga	86	100	25 [21-28]	98 [81-129]	R	67	90	30 [27-32]	84 [72-102]	R
Mboum aviation	80	98	29 [26-33]	169 [129-240]	R	59	83	50 [45-58]	179 [133-287]	R
Nassarao garoua	NR	NR	NR	NR	NR	79	52	34 [29-40]	151 [108-275]	R
Ouro garga	76	94	33 [31-36]	91 [78-111]	R	77	91	29 [25-33]	77 [61-109]	R
Ouro hourso I	NR	NR	NR	NR	NR	20	40	83 [65-184]	268 [141-2700]	R
Ouro hourso II	46	68	79 [63-123]	392 [205-1801]	R	32	102	91 [74-136]	378 [218-1140]	R
Ouro lawane	NR	NR	NR	NR	NR	53	72	42 [38-48]	154 [117-231]	R
Plateau	42	109	44 [41-46]	99 [86-120]	R	52	102	65 [56-78]	229 [155-473]	R
DS Pitoa										
Banaye	NR	NR	NR	NR	NR	94	48	14 [8-18]	51 [42-67]	RP
Be-centre	86	87	22 [20-24]	54 [48-62]	R	74	77	16 [5-28]	182 [122-402]	R
Boula ibib	92	96	26 [5-36]	52 [39-63]	RP	93	90	14 [8-18]	62 [52-78]	RP
Boulgou	88	62	16 [9-23]	33 [22-66]	R	99	79	11 [10-12]	29 [26-34]	S
Boussa	NR	NR	NR	NR	NR	76	80	13 [3-24]	50 [34-114]	RP
Guizigare	74	105	21 [14-27]	53 [44-72]	R	64	81	34 [31-38]	137 [109-186]	R
Kirambo	NR	NR	NR	NR	NR	85	39	12 [5-17]	52 [40-75]	RP
Lombou	70	111	17 [16-18]	32 [29-35]	R	94	80	24 [15-31]	95 [66-219]	RP
Mayo lebri	79	66	17 [14-19]	39 [32-53]	R	91	81	10 [9-11]	40 [34-48]	RP
Mbolom	65	71	20 [5-28]	48 [36-100]	R	NR	NR	NR	NR	NR
Nassarao be	84	70	18 [2-30]	46 [23-58]	R	96	46	14 [11-17]	20 [80-204]	RP
Pene	75	55	26 [11-35]	66 [56-87]	R	93	74	22 [20-24]	86 [71-110]	RP
DS Mayo Oulo										
Bala	90	80	18 [16-19]	51 [45-60]	RP	86	72	28 [26-30]	60 [54-70]	R
Batoum	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Bossoum	100	45	33 [30-37]	76 [64-98]	S	81	63	27 [25-29]	72 [62-88]	R
Boyoum	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Doumou	82	60	30 [23-36]	155 [109-294]	R	49	86	47 [44-50]	91 [80-108]	R
Dourbeye	86	71	21 [19-23]	56 [49-67]	R	75	72	35 [32-37]	83 [73-100]	R
Maboni	80	40	28 [5-43]	89 [70-365]	R	61	80	34 [32-37]	87 [75-104]	R
Matara	NR	NR	NR	NR	NR	86	63	21 [18-24]	41 [34-55]	R
Mayo-oulo	96	72	26 [23-29]	72 [62-89]	RP	69	98	35 [33-37]	79 [70-93]	R

No : nombre de moustique testé, *Tkd50* : temps de knockdown en minutes pour 50% de moustique testé, *Tkd95* : temps de knockdown en minutes pour 95% de moustique testé, *CI*: intervalle de confiance à 95%, *Mt.*: Taux de mortalité après 24 h d'exposition, *S* : sensible ; *R* : Résistant, *RP* : Résistance Probable ; *NR* : Non Réalisé

Les pesticides utilisés en agriculture ont les mêmes cibles que ceux utilisés contre les vecteurs en santé publique et peuvent de ce fait sélectionner le mécanisme de résistance chez les larves dans les gîtes se trouvant en zones agricoles (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). Ceci expliquerait l'importance de la résistance à la deltaméthrine d'*An. gambiae* s.l.

En plus de l'agriculture, plusieurs études sur l'adaptation d'*An. gambiae* s.l. font cas de l'effet de la pollution dans la sélection des gènes de résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme. En effet, les polluants urbains retrouvés dans les gîtes des vecteurs affectent le système de détoxification des moustiques et accroissent leur tolérance aux insecticides (Djouaka *et al.*, 2008; Awolola *et al.*, 2009; Riaz *et al.*, 2009; Poupardin *et al.*, 2012). Au Burkina Faso, il a été observé que les adultes qui émergeaient des gîtes larvaires fortement pollués des milieux urbains avaient une résistance élevée au DDT (Jones *et al.*, 2012), ce qui impliquerait également la résistance aux pyréthriinoïdes, les deux classes d'insecticides ciblant tous deux les canaux sodiques du système nerveux centrale chez le moustiques (Davies *et al.*, 2007). Cependant, Antonio-Nkondjio *et al.*, (2011) ont trouvé qu'à Yaoundé et Douala, la résistance au DDT et aux pyréthriinoïdes était faible chez les moustiques issus des gîtes pollués, contrairement à ceux collectés dans les zones cultivées. Ainsi, la composition physicochimique des eaux des gîtes larvaires serait déterminante dans la survenue des résistances des vecteurs du paludisme en milieu urbain. Ceci contribuerait à l'augmentation de la transmission urbaine du paludisme.

III.1.2 Sensibilité d'*An. gambiae* s.l. dans le District de santé de Pitoa

Sur les 12 villages du DS de Pitoa, les tests n'ont pu être réalisés que dans 10 et 11 villages en 2013 et 2014 respectivement, ceci du fait de la rareté des larves dans les villages Boussa, Kirambo et Banaye et Mbolom. En 2013, *An. gambiae* s.l. était résistant dans 08 villages et une résistance était probable à Boula ibib (92%), tandis qu'en 2014, la résistance à la deltaméthrine chez ce vecteur probable dans 08 villages et résistant dans 02 autres. La sensibilité d'*An. gambiae* s.l. a été rencontrée à Boulgou (99%) (Tableau VI). De manière générale, la différence du statut d'*An. gambiae* s.l. entre 2013 et 2014 n'était pas significatif ($\chi^2 = 7,1$; ddl=7; $p=0,423$), toutefois, l'on n'a noté un regain de la sensibilité du vecteur dans la plupart des villages qui sont passés de résistance en 2013 à une résistance probable en 2014. A Boulgou, le vecteur était résistant en 2013 et sensible en 2014.

La culture du coton impacte la sensibilité des vecteurs, d'où le profil de résistance enregistré. Dans cette région cotonnière, les pyréthriinoïdes ont été abondamment utilisés du fait

de leur efficacité dans le contrôle d'un éventail de ravageurs du coton et pour leur faible coût. C'est ainsi que l'on n'a pu observer des échecs de lutte contre les ravageurs tel que le vers des graines *Helicoverpa armigera* (Brévault & Achaleke, 2005). Le niveau de résistance observé dans la plupart des villages de ce district est en accord avec les résultats antérieurs qui montraient une réduction de la sensibilité d'*An. gambiae* s.l., avec des taux de mortalité entre 83,1% et 92,2% (Chouaibou *et al.*, 2008). La fluctuation au niveau de la sensibilité des vecteurs d'une année à l'autre n'a pas été aussi importante comme à Garoua et serait liée aux cycles de traitement des cultures, et en particulier les champs de coton, les vecteurs devenant plus résistants après le traitement des champs (Chouaibou *et al.*, 2008).

III.1.3 Sensibilité d'*An. gambiae* s.l. dans le District de santé de Mayo Oulo

Les enquêtes sur la sensibilité d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05% ont été menées dans les 9 villages du DS de Mayo Oulo de 2013 à 2014. En 2013, les tests n'ont pu être réalisés que dans 06 villages contre 07 en 2014. En 2013, le vecteur était résistant dans 03 villages, probable dans 02 villages et sensible à Bossoum (100%) (Tableau VI). Quant à 2014, *An. gambiae* s.l. était résistant dans tous les villages. Le vecteur est demeuré résistant entre 2013 et 2014 à Doumo, Dourbeye et Maboni, tandis qu'il est passé à une résistance probable à Bala et Mayo Oulo, et de sensible à résistant à Bossoum. La fluctuation au niveau de la sensibilité des vecteurs d'une année à l'autre a été aussi importante comme dans les deux autres districts, avec des différences plus prononcées à Doumou et Mayo Oulo. Globalement, la fluctuation du taux de mortalité d'une année à l'autre n'était pas significative ($\chi^2=4,8$; ddl=5; p=0,438). Le faible niveau de résistance du vecteur observée dans ce district serait dû aux faibles activités agricoles comparées aux deux autres districts.

III.1.4 Détermination des villages à fortes et faibles résistances

Du fait de la fluctuation du taux de mortalité (post exposition à la deltaméthrine) des vecteurs d'un village à un autre et d'une année à l'autre, les critères de classification de l'OMS (WHO, 2013) n'ont pas pu être appliqués pour classer les différents villages sur les deux années. Ainsi, la médiane des mortalités des vecteurs dans les villages pour chaque année d'étude a été déterminée. Cette médiane a permis de classer les villages en deux groupes : les villages dits à « Forte résistance (FoR) » et ceux dits à « Faible résistance (FaR) » (Tableau VII).

**Tableau VII : Détermination des villages de forte et faible résistance à la deltaméthrine
0,05% suivant la médiane**

Villages	2013		2014	
	Mt	Statut	Mt	Statut
DS Garoua				
Bocki	76	FoR	80	FaR
Djamboutou I	51	FoR	50	FoR
Djamboutou II	54	FoR	69	FoR
Kanadi I	86	FaR	47	FoR
Kanadi II	27	FoR	40	FoR
Kollere	43	FoR	45	FoR
Lainde I	NR	NR	34	FoR
Lainde II	73	FoR	48	FoR
Londerou	59	FoR	80	FaR
Mbilga	86	FaR	67	FoR
Mboum aviation	80	FaR	59	FoR
Nassarao garoua	NR	NR	79	FaR
Ouro garga	76	FoR	77	FaR
Ouro hourso I	NR	FoR	20	FoR
Ouro hourso II	46	FoR	32	FoR
Ouro lawane	NR	NR	53	FoR
Plateau	42	FoR	52	FoR
DS Pitoa				
Banaye	NR	NR	94	FaR
Be-centre	86	FaR	74	FoR
Boula ibib	92	FaR	93	FaR
Boulgou	88	FaR	99	S
Boussa	NR	NR	78	FaR
Guizigare	74	FoR	64	FoR
Kirambo	NR	NR	85	FaR
Lombou	70	FoR	94	FaR
Mayo lebri	79	FaR	91	FaR
Mbolom	65	FoR	NR	NA
Nassarao be	84	FaR	96	FaR
Pene	75	FoR	93	FaR
DS Mayo Oulo				
Bala	90	FaR	86	FaR
Batoum	NR	NR	NR	NR
Bossoum	100	S	81	FaR
Boyoun	NR	NR	NR	NR
Doumou	82	FaR	49	FoR
Dourbeye	86	FaR	75	FaR
Maboni	80	FaR	61	FoR
Matara	NR	NR	86	FaR
Mayo-oulo	96	FaR	69	FoR
Médiane	77,45		74,02	
Village de Forte résistance (FoR)	< 77,45%		< 74,02%	
Village de Faible résistance (FaR)	≥ 77,45%		≥ 74,02%	
Sensible (S)	> 98		> 98	

FaR : faible résistance, FoR : Forte résistance, Mt.: Taux de mortalité après 24 h d'exposition, S : sensible, NR : Non réalisé

Globalement, le statut de la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine dans les trois districts était « forte résistance » sur les deux années, et ce statut n'était pas figé d'une année à l'autre. Toutefois, sur les 38 villages des trois DS, un total de 05 villages FaR et 09 village FoR ont gardé leur statut sur les deux années.

Dans l'ensemble, *An. gambiae* s.l. avait une Forte résistance (FoR) à la deltaméthrine dans la plupart des villages du DS de Garoua sur les deux années. En 2013, 03 villages étaient de Faible Résistance (FaR), contre 04 villages en 2014. Sur les 17 villages du DS, un total de 08 villages a gardé son statut de FoR d'une année à l'autre.

Dans le DS de Pitoa, *An. gambiae* s.l. était de Faible Résistance (FaR) à la deltaméthrine dans la plupart des village sur les deux années. En 2013, sur les 09 villages enquêtés, 05 villages étaient de Faible Résistance (FaR), tandis qu'en 2014, sur les 11 villages enquêtés, 08 villages en 2014 avaient une Faible Résistance (FaR). Sur les 12 villages du DS, un total de 04 villages (3 FaR et 01 FoR) a gardé son statut d'une année à l'autre.

Comme observé dans les villages de Pitoa, *An. gambiae* s.l. dans la plupart de ceux du DS de Mayo Oulo, avait également une Faible Résistance (FaR), soit 05 sur 06 en 2013 et 04 sur 7 en 2014. Sur les 09 villages du DS de Mayo Oulo, les seuls villages à avoir gardé leur statut d'une année à l'autre étaient FaR (Bala et Dourbeye) (Tableau VII).

III.1.5 Conclusion partielle

La résistance des vecteurs était élevée dans les villages des trois DS. Le dynamisme du phénomène a été relevé dans le temps et suivant l'environnement. Ainsi, dans une zone donnée et pour une population de vecteur, l'on peut assister à une fluctuation du niveau de la susceptibilité d'une année à l'autre. Cette fluctuation du niveau de résistance chez *An. gambiae* s.l. d'une année à l'autre, dans un même endroit, pouvait être liée entre autres à des changements climatiques saisonniers (Ranson *et al.*, 2009). Cette situation rend les interprétations du niveau de résistance des vecteurs difficiles. Dans la région du Nord Cameroun, l'historique de l'utilisation des pesticides en agriculture est important, et est en relation avec les cultures pratiquées. Cette utilisation des insecticides pour la lutte contre les ravageurs et la présence des polluants dans les zones urbaines et industrielles jouent un rôle dans la sélection et la propagation de la résistance chez les moustiques. Ainsi, la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthrinoïdes est intimement liée à l'agriculture et l'urbanisation.

III.2 Rôle des anophèles dans la transmission du paludisme dans les sites d'études

III.2.1 Densité de la faune culicidienne

Durant les quatre années d'enquête, 80.689 moustiques dont 21.577 (26,74%) appartenant aux genres *Anopheles*, 49.776 *Culex* (61,69 %), 8938 *Mansonia* (11,08 %), 240 *Aedes* (0,30 %) et 164 *Coquillettidia* (0,20 %) ont été collectés par la méthode de capture sur appât humain dans les trois DS (Tableau VIII). Quel que soit le village considéré ou les trois DS de l'étude, la nuisance culicidienne était essentiellement dominée par les moustiques du genre *Culex*. Cette nuisance était plus prononcée en zone rizicole (DS de Pitoa) et en zone urbaine (DS de Garoua). Cette situation serait due à l'urbanisation anarchique qui entrainerait l'insalubrité propice à la prolifération des gîtes pollués prisés par les *Culex* (Robert *et al.*, 1989b; Manga *et al.*, 1992). Ces résultats corroborent ceux obtenus dans la zone rizicole de Lagdo, Région du Nord Cameroun (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2008). La présence permanente des eaux des rizières semble favoriser non seulement la prolifération des *Anophèles*, mais également celle des *Culex*.

Tableau VIII : Composition de la faune générique agressive dans les trois districts de santé

Année	District de santé	Espèces culicidiennes					Total
		<i>Anopheles</i>	<i>Culex</i>	<i>Mansonia</i>	<i>Aedes</i>	<i>Coquillettidia</i>	
2011	Mayo Oulo	2048	2538	159	93	0	4838
	Garoua urbain	2902	11361	774	10	0	15047
	Pitoa	4038	5684	1883	29	0	11634
	Total	8988	19583	2816	132	0	31519
2012	Mayo Oulo	591	1798	16	4	0	2409
	Garoua urbain	1186	7016	630	5	76	8913
	Pitoa	2601	5802	302	5	5	8715
	Total	4378	14616	948	14	81	20037
2013	Mayo Oulo	1015	1689	339	3	0	3046
	Garoua urbain	2380	4516	90	4	67	7057
	Pitoa	2131	1107	3076	10	2	6326
	Total	5526	7312	3505	17	69	16429
2014	Mayo Oulo	163	529	372	71	1	1136
	Garoua urbain	664	3218	124	1	13	4020
	Pitoa	1858	4518	1173	5	0	7548
	Total	2685	8265	1669	77	14	12704
Total	Mayo Oulo	3817	6554	886	171	1	11429
	Garoua urbain	7132	26111	1618	20	156	35037
	Pitoa	10628	17111	6434	49	7	34223
	Total	21577	49776	8938	240	164	80689

III.2.2 Composition de la faune culicidienne et abondance par district de santé

III.2.2.1 Composition de la faune culicidienne dans le District de santé de Garoua

Un total de 35037 moustiques a été récolté dans les dix-sept (17) villages enquêtés dans le DS de Garoua. Un total de cinq (05) genres de Culicidés a été récolté : 26111 *Culex* spp. (74,52%), 7.132 *Anopheles* spp. (20,36%), 1618 *Mansonia* spp (4,62%), 156 *Coquillettidia* spp (0,45%) et 20 *Aedes* spp. (0,06%). *Culex* spp. a été le genre le plus abondant. En fonction des villages, la densité culicidienne a été plus importante à Mbilga (3648 moustiques) et à Mboum Aviation (2533 moustiques) (Tableau IX).

Un total de 7132 moustiques appartenant au genre *Anopheles* a été collecté. Ils appartenaient à 11 espèces donc : 5.138 *An. gambiae* s.l. (72,04%), 967 *An. pharoensis* (13,356%), 497 *An. funestus* (6,97%), 267 *An. paludis* (3,74%), 234 *An. rufipes* (3,28%), 15 *An. squamosus* (0,21%), 05 *An. coustani* (0,07%), 05 *An. ziemanni* (0,07%), 02 *An. implexus* (0,03%), 01 *An. kingi* (0,02%), 01 *An. tenebrosus* (0,02%). Des 17 villages du DS, la densité anophélienne a été plus importante dans les villages de Mbilga et Londerou où respectivement 29,28% (2088/7132) et 17,61% (1256/7132) d'anophèles ont été collectés (Tableau IX).

III.2.2.2 Composition de la faune culicidienne dans le District de santé de Pitoa

Un total de 34229 moustiques a été récolté dans les douze (12) villages enquêtés dans le DS de Pitoa. Cinq genres de Culicidés y ont été récoltés : 17111 *Culex* spp. (49,99%), 10628 *Anopheles* spp. (31,05%), 6434 *Mansonia* spp (18,80%), 49 *Aedes* spp (0,14%). et 07 *Coquillettidia* spp (0,02%). *Culex* spp. était le genre le plus abondant. En fonction des villages, la densité culicidienne a été plus importante à Nassarao-Be et Mbolom, soit 13,91% (4761/34229) et 12,76% (4366/34229) respectivement (Tableau X).

Les moustiques collectés et appartenant au genre *Anopheles* étaient de 10628 au total. Ils appartenaient à 15 espèces donc : 7780 *An. gambiae* s.l. (73,20%), 722 *An. rufipes* (6,79%), 702 *An. pharoensis* (6,61%), 591 *An. funestus* (5,56%), 359 *An. paludis* (3,38%), 285 *An. ziemanni* (2,68%), 88 *An. maculipalpis* (0,83%), 28 *An. coustani* (0,26%), 20 *An. christyi* (0,19%), 13 *An. hancocki* (0,12%), 12 *An. smithii* (0,11%), 11 *An. implexus* (0,10%), 09 *An. marshalli* (0,08%), 05 *An. zebudensis* (0,05%), 03 *An. carnevalei* (0,03%). Des 12 villages du district, la densité anophélienne a été plus importante dans les villages de Lombou et Boulgou, soit 19,18% (2038/10628) et 11,17% (1187/10628) respectivement (Tableau X).

Tableau IX : Composition de la faune culicidienne à Garoua

<i>Anopheles</i>	Villages de Garoua																	Total
	Boum Aviation	Bocki	Kanadi		Ouro Hourso I	Ouro Hourso II	Plateaux	Lande II	Ouro Garga	Londerou	Djamboutou		Djamboutou II	Kanadi II	Lainde I	Mbilga	Ouro Lawane	
<i>An. gambiae</i> s.l.*	117	261	72	47	92	122	67	171	383	713	272	173	241	178	1652	181	396	5138
<i>An. funestus</i> *	9	9	6	3	6	3	4	4	85	210	3	9	17	8	59	47	15	497
<i>An. Pharoensis</i> *	12	81	9	19	34	94	26	33	27	44	26	36	27	45	354	53	47	967
<i>An. rufipes</i>	0	1	0	0	5	2	0	0	67	145	0	1	1	0	12	0	0	234
<i>An. paludis</i> *	0	2	0	1	2	1	0	0	122	123	4	0	0	0	10	2	0	267
<i>An. squamosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	15
<i>An. coustani</i> *	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	1	0	5
<i>An. kingi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>An. tenebrosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>An. ziemanni</i> *	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0	5
<i>An. implexus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
Total 1	138	354	87	70	139	222	97	208	684	1256	305	221	290	231	2088	284	458	7132
Autres espèces																		
<i>Culex sp</i>	1954	1362	1628	1392	944	1227	1617	1546	988	1148	1577	2239	2042	1619	1489	1406	1933	26111
<i>Coquilletidia</i>	18	0	7	1	12	0	6	7	12	6	24	6	8	2	25	18	4	156
<i>Mansonia sp</i>	423	85	64	61	94	115	219	37	89	103	65	35	25	89	45	25	44	1618
<i>Aedes sp</i>	0	3	0	0	2	2	0	1	0	2	2	2	2	0	1	1	2	20
Total 2	2395	1450	1699	1454	1052	1344	1842	1591	1089	1259	1668	2282	2077	1710	1560	1450	1983	27905
Total 1+2	2533	1804	1786	1524	1191	1566	1939	1799	1773	2515	1973	2503	2367	1941	3648	1734	2441	35037

*Espèces anophéliennes déjà décrit comme vecteur du paludisme au Cameroun

Tableau X : Composition de la faune culicidienne à Pitoa

<i>Anopheles</i>	Villages de Pitoa												total
	Guizigare	Kirambo	Be Centre	Boula Ibib	Boussa	Nassarao-Be	Lombou	Banaye	Boulgou	Mbolom	Mayo Lebri	Pene	
<i>An. gambiae</i> s.l.*	442	467	825	100	788	481	1697	337	864	725	350	698	7774
<i>An. funestus</i> *	37	157	35	4	44	19	60	74	104	39	13	5	591
<i>An. pharoensis</i> *	78	13	23	7	90	108	158	1	44	129	34	17	702
<i>An. rufipes</i>	3	5	23	0	16	22	8	0	105	2	538	0	722
<i>An. ziemanni</i> *	0	5	1	0	6	253	9	0	9	2	0	0	285
<i>An. paludis</i> *	0	7	69	0	19	89	64	9	16	51	32	3	359
<i>An. maculipalpis</i>	31	0	0	0	1	1	19	0	35	0	1	0	88
<i>An. coustani</i> *	0	7	2	0	1	8	1	2	4	1	0	2	28
<i>An. christyi</i>	0	1	0	0	9	2	0	0	0	3	5	0	20
<i>An. smithii</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	1	8	0	0	12
<i>An. implexus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1	7	0	11
<i>An. marshalli</i> *	0	0	0	0	0	0	7	0	2	0	0	0	9
<i>An. zebudensis</i>	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	1	0	5
<i>An. hancocki</i> *	1	0	0	0	0	1	9	0	1	1	0	0	13
<i>An. carnevalei</i> *	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	3
Total 1	596	662	978	111	978	984	2038	423	1187	964	982	725	10628
Autres espèces													
<i>Culex ssp</i>	877	672	2349	1881	2114	2810	1825	216	1853	1297	955	262	17111
<i>Mansonia ssp</i>	14	67	878	102	1335	958	220	11	64	2098	74	613	6434
<i>Aedes ssp</i>	3	6	3	0	0	5	12	8	5	6	0	1	49
<i>Coquilitidia ssp</i>	0	0	1	0	0	4	0	1	0	1	0	0	7
Total 2	894	745	3231	1983	3449	3777	2057	236	1922	3402	1029	876	23601
Total 1+2	1490	1407	4209	2094	4427	4761	4095	659	3109	4366	2011	1601	34229

*Espèces anophéliennes déjà décrit comme vecteur du paludisme au Cameroun

III.2.2.3 Composition de la faune culicidienne dans le District de Mayo Oulo

Au total, 11429 moustiques ont été récoltés dans les (09) neuf villages enquêtés dans le DS de Mayo Oulo. Quatre genres de Culicidés y ont été récoltés, à savoir 6554 *Culex* spp. (57,35%), 3.817 *Anopheles* spp. (33,40%), 886 *Mansonia* spp (7,75%) et 171 *Aedes* spp. (1,50%). *Culex* spp. a été le genre le plus abondant comme dans les deux autres districts. La densité culicidienne a été plus importante à Bala et Dourbeye soit 23,79% (2719/11429) et 22,89% (2616/11429) respectivement (Tableau XI).

Quant aux moustiques du genre *Anopheles*, un total de 3817 a été collecté, appartenant à 22 espèces donc 1947 *An. gambiae* (51,01%), 1213 *An. rufipes* (31,78%), 172 *An. funestus* (4,51%), 138 *An. pharoensis* (3,62%), 116 *An. pretoriensis* (3,04%), 79 *An. christyi* (2,07%), 31 *An. paludis* (0,81%), 22 *An. squamosus* (0,58%), 21 *An. implexus* (0,55%), 20 *An. coustani* (0,52%), 19 *An. ziemanni* (0,50%), 10 *An. maculipalpis* (0,26%), 05 *An. barberellus* (0,13%), 05 *An. nili* (0,13%), 04 *An. domicolus* (0,10%), 04 *An. azaniae* (0,10%), 03 *An. natalensis* (0,08%), 02 *An. ardensis* (0,05%), 02 *An. tenebrosus* (0,05%), 02 *An. rhodesiensis* (0,05%), 01 *An. somalicus* (0,03%), 01 *An. smithii* (0,03%). Des neuf (09) villages du district, la densité anophélienne a été plus importante dans les villages de Bala et Bouyoum soit 35,05% (1338/3817) et 32,49% (1240/3817) respectivement (Tableau XI).

La diversité anophélienne a été prononcée dans le district de Mayo Oulo et serait sans doute due aux différentes conditions environnementales rencontrées dans ce district. Dans l'ensemble, vingt-sept (27) espèces anophéliennes ont été récoltées tout au long des quatre années d'étude. Parmi ces 27 anophèles, 08 étaient tous présent dans les trois DS : *An. gambiae* s.l., *An. funestus*, *An. pharoensis*, *An. rufipes*, *An. paludis*, *An.ziemani*, *An. coustani*, *An. implexus*. Ces espèces sont pour la plupart fréquemment rencontrées dans cet environnement comme l'a montré Antonio-Nkondjio *et al.*, (2006). Cette diversité pourrait s'expliquer par la saison pluvieuse qui crée d'innombrables gîtes propices au développement d'une pléthore de moustiques. Parmi les anophèles récoltés, *An. gambiae* s.l. était toujours de loin l'espèce anophélienne majoritaire, suivi d'*An. rufipes*, *An. pharoensis* et *An. funestus*. Ces observations sont en accord avec la distribution de ces espèces au Cameroun, ainsi que dans les régions de savanes sèches de l'Afrique de l'Ouest (Dia *et al.*, 2003; Koudou *et al.*, 2005).

Tableau XI : Composition de la faune culicidienne à Mayo Oulo

<i>Anopheles</i>	Villages de Mayo oulo									Total
	Mayo Oulo	Maboni	Matara	Doumo	Bala	Dourbeye	Bouyoum	Batoum	Bossom	
<i>An. gambiae</i> *	85	9	43	39	994	242	206	226	103	1947
<i>An. rufipes</i> *	0	0	0	0	85	43	809	172	104	1213
<i>An. funestus</i> *	0	2	2	5	14	15	89	22	23	172
<i>An. pharoensis</i> *	2	5	1	4	69	10	25	15	7	138
<i>An. pretoriensis</i>	0	0	0	3	55	1	49	0	8	116
<i>An. christyi</i>	0	0	0	0	64	9	4	1	1	79
<i>An. paludis</i> *	0	0	0	0	11	1	17	0	2	31
<i>An. coustani</i> *	0	0	0	0	14	0	2	3	1	20
<i>An. ziemanni</i> *	0	0	0	0	2	0	3	8	6	19
<i>An. squamosus</i>	0	0	0	0	1	0	12	2	7	22
<i>An. barberellus</i>	0	0	0	0	0	0	5	0	0	5
<i>An. nili</i> *	0	0	0	0	1	1	3	0	0	5
<i>An. maculipalpis</i>	0	0	0	1	0	0	8	0	1	10
<i>An. domicolus</i>	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4
<i>An. azaniae</i>	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4
<i>An. natalensis</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
<i>An. ardensis</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
<i>An. tenebrosus</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
<i>An. smithii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>An. somalicus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>An. rhodesiensis</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2
<i>An. implexus</i>	0	0	0	0	21	0	0	0	0	21
Total 1	88	16	46	53	1338	322	1240	450	264	3817
Autres espèces										
<i>Mansonia</i> spp	0	0	0	0	857	3	5	18	3	886
<i>Culex</i> spp	1386	313	680	804	441	2291	323	103	213	6554
<i>Aedes</i> spp	4	1	3	17	83	0	10	45	8	171
<i>Coquellittidia</i> spp	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Total 2	1390	314	683	821	1381	2294	339	166	224	7612
Total 1+2	1478	330	729	874	2719	2616	1579	616	488	11429

*Espèces anophéliennes déjà décrit comme vecteur du paludisme au Cameroun

III.2.3 PCR d'identification des membres du complexe *Anopheles gambiae s.l*

Un total de 989 *An. gambiae s.l.* provenant des trois DS de la zone d'étude a été analysé par PCR entre 2011 et 2014. Parmi ces anophèles, 664 (67,14%) étaient composés d'*An. arabiensis*, 258 (26,09%) d'*An. coluzzii* et 80 (8,09%) d'*An. gambiae s.s.* La forte proportion d'*An. arabiensis* corrobore les observations faites en Afrique subsaharienne (Gillies & Coetzee, 1987; Coetzee *et al.*, 2000) et dans le Nord du Cameroun (Robert *et al.*, 1992; Wondji *et al.*, 2005) selon lesquelles *An. arabiensis* prédomine dans les zones soudano-sahéliennes caractérisées par une longue saison sèche.

En fonction des DS, un total de 314 *An. gambiae s.l.* a été testé à Mayo Oulo, parmi lesquelles 82,86%, 8,25% et 8,57% étaient respectivement *An. arabiensis*, *An. coluzzi* et *An. gambiae s.s.*; tandis que sur les 436 analysés à Garoua, *An. arabiensis*, *An. coluzzi* et *An. gambiae s.s.* représentaient respectivement 56,57%, 39,20%, et 6,57% (Figure 32). Quant à Pitoa, sur les 252 *An. gambiae s.l.* testés, 65,32% d'*An. arabiensis*, 26,21% d'*An. coluzzi* et 10,08% d'*An. gambiae s.s.* ont été trouvés. Ainsi, *An. arabiensis* était le membre du complexe *gambiae* le plus prédominant quel que soit le DS, suivi d'*An. coluzzii*. Les membres du complexe *gambiae* sont connus pour leur ségrégation fortement associées aux variations spatio-temporelles (Diabaté *et al.*, 2008). Cette ségrégation est d'autant plus prononcée au Cameroun, au vu des variations éco-géographiques du Sud au Nord du pays. La distribution d'*An. gambiae s.s.* est plus étendue, de la zone forestière du Sud du pays aux zones sahéliennes arides des régions septentrionales où *An. arabiensis* est plus répandu (Simard *et al.*, 2009). La Figure 32 montre les proportions des différents membres du complexe *gambiae*.

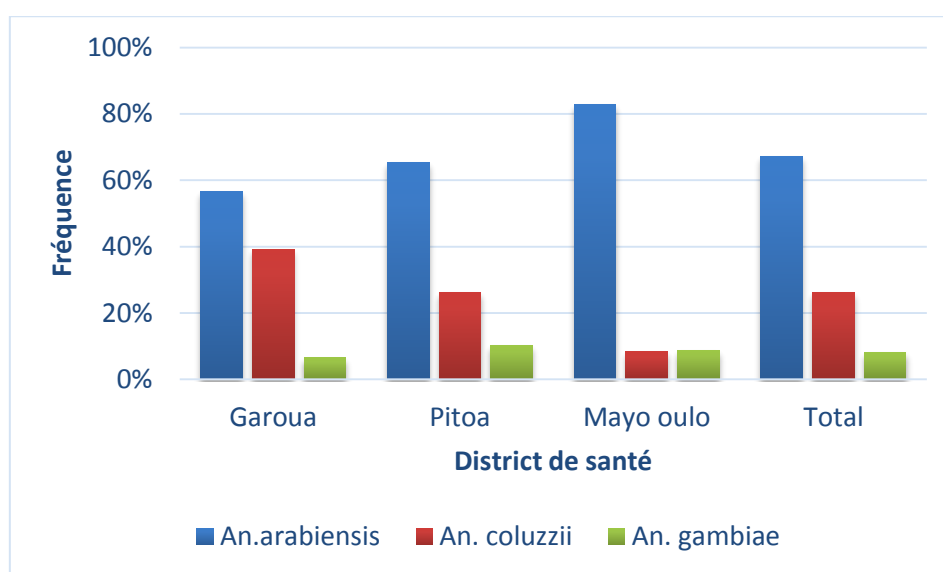


Figure 32 : Identification des membres du complexe *Anopheles gambiae s.l.*

III.2.4 Taux de parturité

Un total de 4.206 ovaires d'anophèles a été disséqué et 2.661 ont été identifiés pares. Globalement, le taux de parturité chez les espèces vectrices était élevé, et variait entre 49 et 88%. Le taux de parturité d'*An. gambiae* s.l. était situé entre 54% et 77%. Les parités les plus élevées ont été celles d'*An. funestus* et d'*An. paludis* (Figure 33). Suivant le DS, la parturité moyenne des anophèles dans celui de Garoua était de 55,84%, 76,10% dans le DS Pitoa et 73,30% dans le DS Mayo Oulo. Ces taux de parité élevés témoignent de la forte présence d'une population vectrice vieille. Ainsi, ces anophèles (*An. gambiae* s.l., *An. funestus*, *An. pharoensis*, *An. zienanni*, *An. rufipes* et *An. paludis*) vivaient suffisamment longtemps pour piquer et éventuellement transmettre la maladie. Cette situation remettrait en cause l'efficacité des méthodes de prévention employées contre les vecteurs adultes du paludisme dans la région. En effet, les outils de prévention telles les MILDA et les AID, au-delà de limiter le contact entre l'homme et le vecteur, sont dotés de molécules d'insecticides ayant un effet létal sur la population vectrice. Les causes probables d'un tel vieillissement de la population vectrice s'expliqueraient par l'inefficacité des moyens de prévention (MILDA), à leur mauvaise/non utilisation et/ou la résistance des vecteurs aux insecticides.

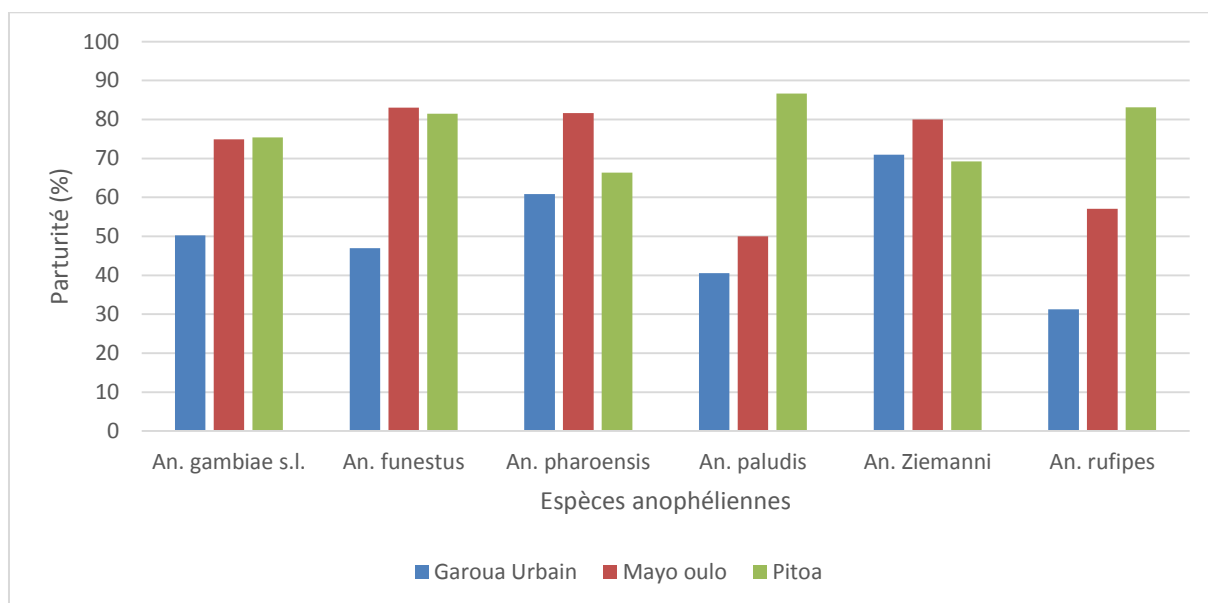


Figure 33 : Variations du Taux de parturité chez les espèces vectrices dans les trois districts de santé

III.2.5 Implication des vecteurs dans la transmission du paludisme

III.2.5.1 Variations de l'agressivité des anophèles vecteurs

De manière générale, dans les trois DS, le taux d'agressivité variait de 0 piqûre par homme par nuit (p/h/n) à 39,74 p/h/n (Figure 34). *Anopheles gambiae* s.l. a été l'espèce anophélienne la plus agressive dans tous les DS, et ce durant toutes les quatre années de l'enquête, sauf dans le DS de Mayo Oulo (Figure 34). En effet, *An. rufipes* a été en 2012 et 2013 le plus agressif de 11,083 et de 7,852 p/h/n respectivement. Quant aux espèces *An. funestus*, *An. pharoensis* et *An. paludis*, leurs agressivités ont fluctué en fonction des années et des DS. *Anopheles funestus* a été plus agressive en 2011 à Pitoa (4,22 p/h/n), *An. pharoensis* en 2011 à Garoua (4,22 p/h/n), *An. paludis* à Pitoa en 2012 (1,94 p/h/n).

Le fort taux d'agressivité d'*An. gambiae* s.l. observé dans les trois DS est en accord avec les précédentes études menées dans cette partie du pays (Robert *et al.*, 1992). Toutefois l'agressivité d'*An. rufipes* à Mayo Oulo contraste avec celle habituellement observée (Bigoga *et al.*, 2007a; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2008). Ceci s'expliquerait par la saison de pluie favorable à la création de nombreux gîtes propices au développement de cette espèce ou alors à un changement de comportement trophique tel que décrit chez d'autres espèces anophéliennes (Githeko *et al.*, 1994).

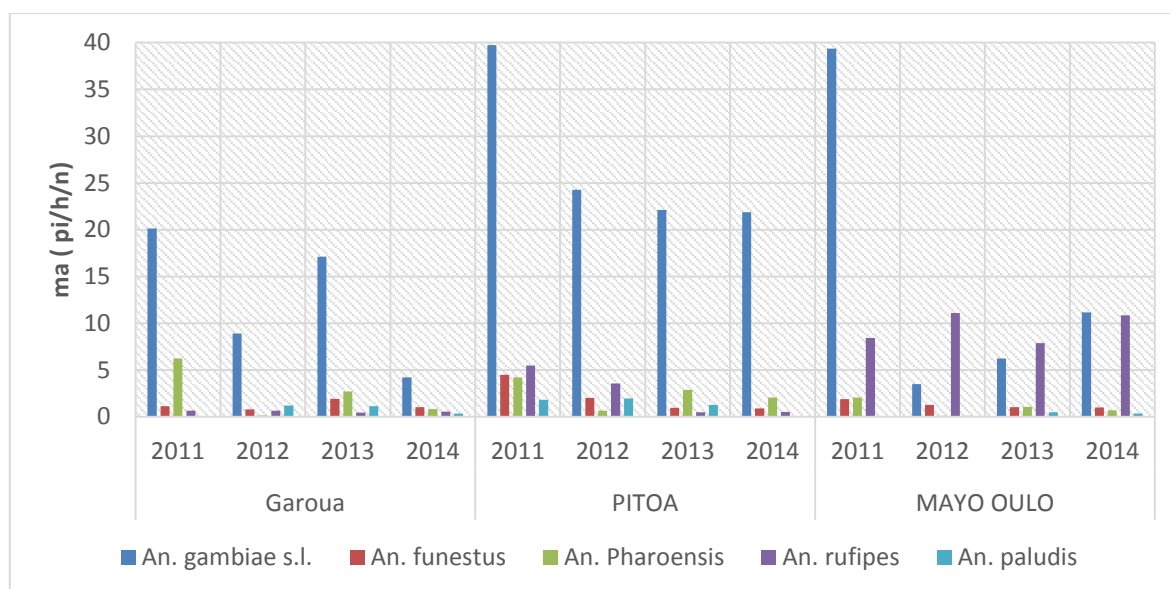
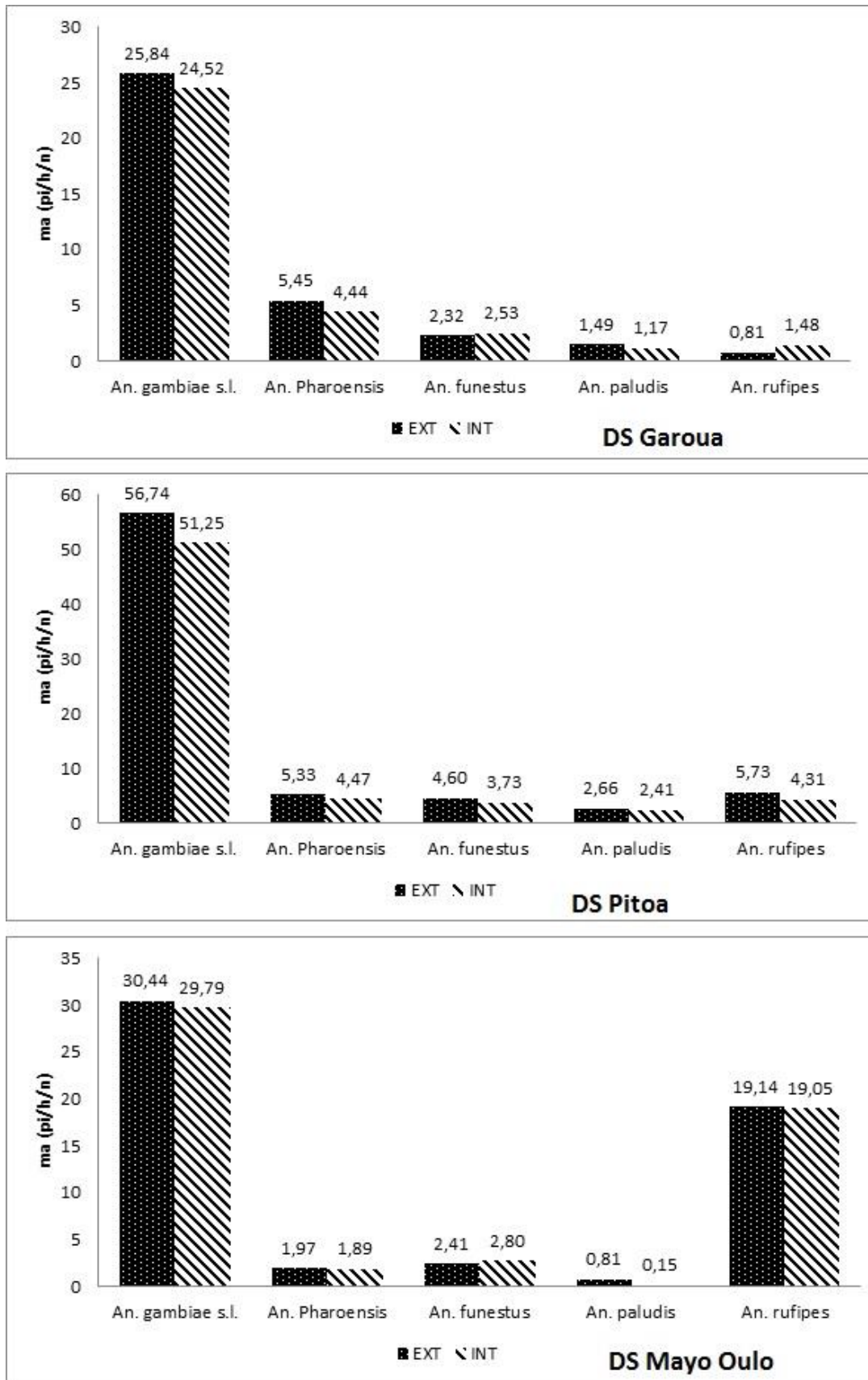


Figure 34 : Variations annuelle de l'agressivité moyenne des espèces vectrices des trois districts de santé



ma : agressivité en piqûre par homme par nuit (p/h/n) ; EXT : Extérieur, INT : Intérieur

Figure 35 : Comportement de piqûre des espèces anophéliennes dans les trois districts de santé

III.2.5.2 Comportement de piqûre des anophèles vecteurs

Le comportement de piqûre des différentes espèces anophéliennes vectrices dans les trois DS n'a globalement pas montré de différence entre le lieu de piqûre (extérieur ou intérieur). L'agressivité d'*An. gambiae* s.l. n'a montré aucune différence significative à Garoua ($\text{Chi}_2 = 0,035$; $\text{ddl} = 1$; $p = 0,852$), à Pitoa ($\text{Chi}_2 = 0,6$; $\text{ddl} = 1$; $p = 0,28$) et à Mayo Oulo ($\text{Chi}_2 = 0,007$; $\text{ddl} = 1$; $p = 0,933$) (Figure 35).

Les comportements de piqûre au sein d'une population anophélienne sont rarement clairs dans les conditions naturelles. La disponibilité de l'hôte et la préférence trophique du moustique sont déterminantes dans ce comportement trophique (Killeen *et al.*, 2001). Dans le complexe *An. gambiae.*, *An. gambiae* s.s. est décrit comme étant anthropophile, endophage et exophage, avec un comportement de repos endophile (Sharp & Sueur, 1991). Quant à *An. arabiensis*, il a plus une tendance zoophile et exophile. Cependant, le comportement trophique d'*An. gambiae* s.l., vecteur majeur dans les trois DS n'a montré aucune préférence du lieu de piqûre, et a été rencontré autant à l'intérieur des ménages qu'à l'extérieur. Il a été de même des autres espèces telles qu'*An. pharoensis*, *An. funestus*, *An. paludis*, *An. rufipes* (Figure 35).

III.2.5.3 Cycle nocturne de piqûre des anophèles dans les sites d'étude

Le cycle de piqûre des anophèles vecteurs a varié suivant les espèces. Dans le DS de Garoua et de Pitoa, l'activité d'*An. gambiae* s.l. a été plus intense entre 24h-02h du matin. Par contre, ce vecteur avait une activité intense dès 18 h à Mayo Oulo où l'on notait déjà 3 p/h/n et cette activité allait croissant pour atteindre son maximum entre 22h-24h. Le pic d'activité d'*An. pharoensis*, *An. rufipes* et *An. funestus* se situait entre 20h-22h à Garoua (Figure 36). A Pitoa, *An. pharoensis* piquait plus entre 20h-24h, entre 24h-02h pour *An. funestus* et de 22h à 24h pour *An. rufipes* (Figure 36). Dans le DS de Mayo Oulo, *Anopheles. rufipes* dès 18 h était très actif, pour atteindre son maximum d'activité entre 24h et 02h du matin.

Dans les trois sites d'études, *An. gambiae* s.l. était très actif entre 22h et 02h, *An. pharoensis*, *An. funestus* et *An. rufipes* avaient quant à eux une activité similaire aux observations de Hamon, (1963). Ces anophèles piquaient essentiellement la nuit et plus précisément entre le coucher et le lever du soleil. Cependant, ce cycle d'agressivité varie suivant les espèces et l'écologie, les saisons ou l'âge physiologique (pares ou nullipares). C'est ainsi que des piqûres diurnes ont été observées chez certaines espèces comme *An. homunculus* à Trinidad présentant un pic de piqûres entre 16 h et 20 h (Chadee, 1994).

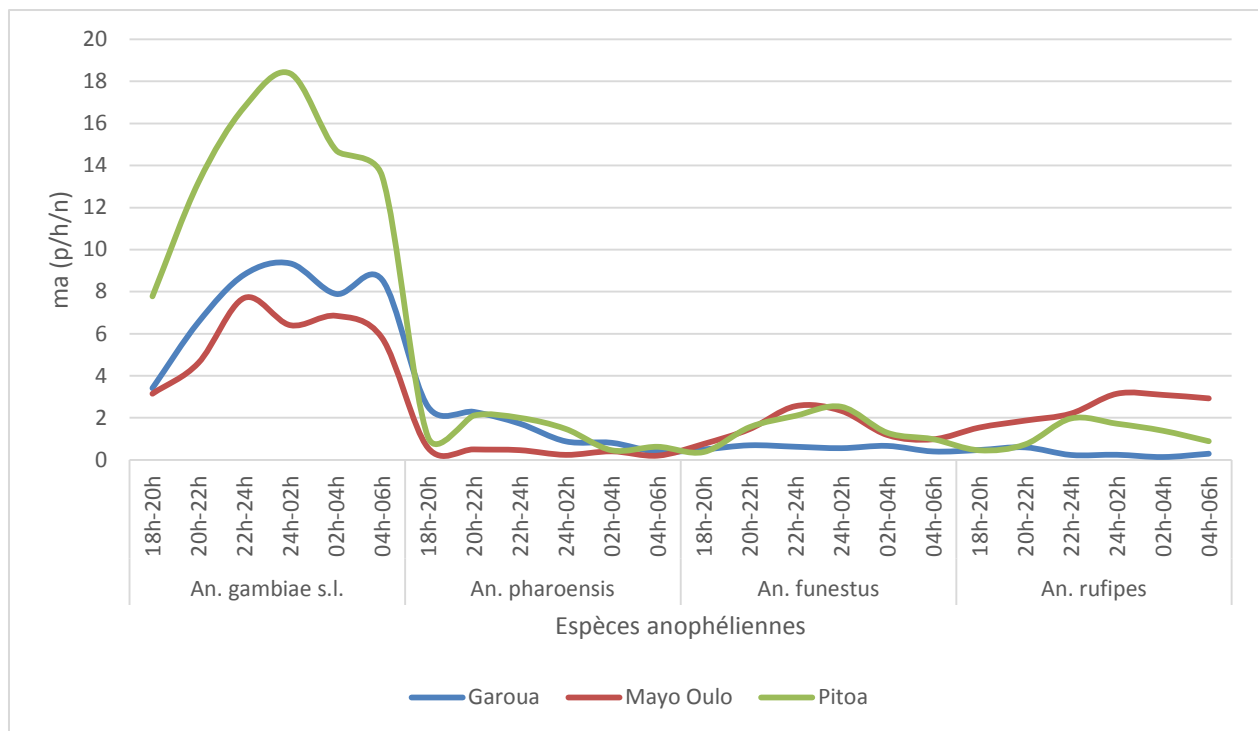


Figure 36 : Cycle de piqûre des anophèles dans les trois District santé

III.2.5.4 Taux d'anthropophilie des espèces anophéliennes

Dans les trois DS, la source du repas de sang chez 3977 *Anopheles* gorgés qui ont été collectés au repos à l'intérieur des cases a été analysée par la technique ELISA. Globalement, le taux d'anthropophilie (TA) des espèces était de 40,21% (Tableau XII). L'analyse au niveau de chaque espèce a montré qu'*An. coluzzii* était le plus anthropophile, avec un TA de 80%. De par la diversité des origines des repas de sang, les espèces *An. arabiensis* et *An. funestus* ont montré une tendance opportuniste dans leur choix de l'hôte. Toutefois, leurs anthropophilies étaient importantes, avec un TA de 50% chez *An. arabiensis*, 37,50% chez *An. gambiae* s.s.. Cependant, *An. funestus* pourtant connu pour être le plus anthropophage des espèces anophéliennes (Beier *et al.*, 1988; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002) a été retrouvé avec un faible taux d'anthropophilie (36,36%). Ceci s'expliquerait par la présence d'autres animaux servant d'hôtes pour le repas de sang ou à la présence d'autres membres du complexe *funestus* s.l. En effet, *An. funestus* s.l. est formé d'au moins neuf espèces morphologiquement identiques (Gilles & de Meillon, 1968) dont certains sont soit zoophiles soit non vecteurs (Wilkes *et al.*, 1996). *Anopheles rufipes* a été trouvé avec un taux d'anthropophilie de 23,53 %, contrastant avec les études antérieures le décrivant comme une espèce zoophile (Gillies & DeMeillon, 1968; Gillies & Coetzee, 1987). Cependant, cette anthropophilie avait déjà été faiblement observés (Bruce-

Chwatt *et al.*, 1960; Robert *et al.*, 1988; Bigoga *et al.*, 2007a). La forte proportion de repas mixte rencontrés chez cette espèce témoigne néanmoins de sa tendance opportuniste dans son choix de l'hôte.

Tableau XII : Origine du repas de sang des anophèles

	Espèces anophéliennes					
	Complexe gambiae			<i>An. funestus</i>	<i>An. rufipes</i>	Total
	<i>An. arabiensis</i>	<i>An. coluzzii</i>	<i>An. gambiae</i> s.s.			
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Homme	533 (50,00)	246 (37,50)	164 (80)	492 (36,36)	164 (23,53)	1599 (40,21)
Bœuf	164 (15,38)	82 (12,50)	0 (0)	205 (15,15)	123 (17,65)	574 (14,43)
Porc	0 (0)	82 (12,50)	0 (0)	41 (3,03)	41 (5,88)	164 (4,12)
Mouton	41 (3,85)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	41 (1,03)
Homme/Bœuf	164 (15,38)	41 (6,25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	205 (5,15)
Homme/Porc	0 (0)	0 (0)	0 (0)	41 (3,03)	0 (0)	41 (1,03)
Bœuf/Mouton	0 (0)	0 (0)	0 (0)	41 (3,03)	41 (5,88)	82 (2,06)
Bœuf/Mouton/Porc	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	41 (5,88)	41 (1,03)
Autres	164 (15,38)	205 (31,25)	41 (20)	533 (39,39)	287 (41,18)	1230 (30,93)
Total	1066 (100)	656 (100)	205 (100)	1353 (100)	697 (100)	3977 (100)

n : Nombre

III.2.5.5 Taux d'infection des anophèles vecteurs

Au total, 10185 anophèles femelles ont été testés par ELISA pour la recherche de la protéine circumsporozoïtique de *P. falciparum* dans la tête et le thorax (Figure 37). Un total de 249 individus a été trouvé infecté, soit un indice circumsporozoïtique moyen de 2,42% [2,13-2,73]. Des espèces anophéliennes testées, la protéine circumsporozoïtique de *P. falciparum* a été détectée chez six espèces d'anophèles : *An. paludis* (2,61%), *An. funestus* (2,69%), *An. rufipes* (2,66%), *An. gambiae* s.l. (2,39%), *An. pharoensis* (2,30%) et *An. ziemanni* (1,72%) (Tableau XIII).

Tableau XIII : Taux d'infestation des espèces anophéliennes

Espèces Anophélienne	N testé	N infecté par <i>P. falciparum</i>	Taux d'Infection global (%) [IC (95%)]
<i>An. gambiae s.l</i>	7503	179	2,39% [2,06-2,76]
<i>An. funestus</i>	744	20	2,69% [1,75-4,12]
<i>An. pharoensis</i>	955	22	2,30% [1,53-3,46]
<i>An. rufipes</i>	638	17	2,66% [1,67-4,23]
<i>An. paludis</i>	345	9	2,61% [1,38-4,88]
Total	10185	247	2,42% [2,13-2,73]

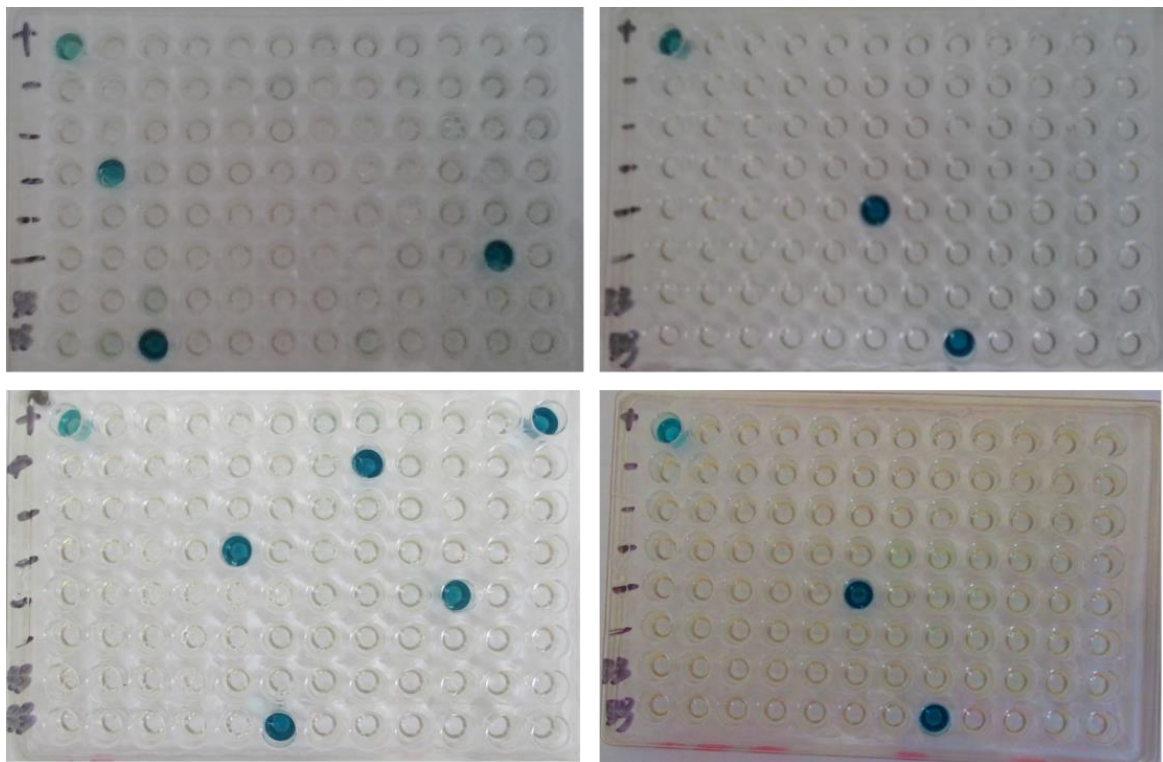


Figure 37 : Plaques ELISA CSP indiquant les anophèles infectés par la coloration en bleue

Dans le DS de Garoua, un total de 4457 anophèles a été testé par ELISA et 87 ont été trouvés infectés, soit un taux d'infection de 1,95% [1,59-2,40]. Cinq espèces anophéliennes ont été trouvées porteuses de la protéine Circumsporozoïtique de *P. falciparum* : *An. gambiae s.l.*, *An. funestus*, *An. paludis*, *An. rufipes*, *An. pharoensis*. Sur les quatre années, ce taux a été plus

élevé chez *An. paludis* (3,4%), suivi d'*An. rufipes* (2,9%). Les taux d'infection dans le DS de Garoua suivant les années ont été de 1,69% en 2011, 1,47% en 2012, 2,28% en 2013 et de 2,20% en 2014 (Tableau XIV). La différence observée n'était pas significative ($\chi^2 = 0,242$; ddl = 3; $p = 0,97$).

Quant au DS de Pitoa, un total de 4.492 anophèles a été testé par ELISA et 118 ont été trouvés infectés, soit un taux d'infection de 2,69% [2,25-3,21]. De même que dans le DS de Garoua, cinq espèces anophéliennes ont été trouvées porteuses de la protéine Circumsporozoïtique de *P. falciparum* : *An. gambiae* s.l., *An. funestus*, *An. paludis*, *An. rufipes*, *An. pharoensis*. Sur les quatre années, le taux d'infection a été plus élevé chez *An. pharoensis* (3,8%), suivi de *An. gambiae* s.l. (2,6%). Ces taux dans le DS de Pitoa suivant les années ont été de 3,55% en 2011, 2,09% en 2012, 3,43% en 2013 et de 1,20% en 2014 (Tableau XV), et la différence n'était pas significative ($\chi^2 = 1,483$; ddl = 3; $p = 0,686$).

Pour ce qui est du DS de Mayo Oulo, un total de 1.236 anophèles a été testé par ELISA et 42 ont été trouvés infectés soit un taux d'infection de 3,4% [2,52-4,56]. Les mêmes espèces qu'à Garoua et Pitoa ont été trouvées porteuses de la protéine Circumsporozoïtique de *P. falciparum*. Sur les quatre années, ce taux a été plus élevé chez *An. funestus* (4,2%), suivi de *An. gambiae* s.l. (3,5%). Ces taux d'infection dans le DS de Mayo Oulo ont été de 3,93% en 2011, 1,86% en 2012, 4,35% en 2013 et de 1,89% en 2014 (Tableau XVI), avec une différence non significative ($\chi^2 = 1,735$; ddl = 3; $p = 0,63$).

Sur les quatre années de l'étude, le taux d'infection a varié suivant les espèces anophéliennes et suivant les DS. Ce taux d'infestation était élevé chez *An. paludis*, *An. pharaoensis* et *An. funestus*, contrastant avec la plupart des études réalisées en Afrique où *An. gambiae* s.l. est rencontré avec de forts taux d'infection de loin supérieurs à ceux d'autres vecteurs du paludisme (Robert *et al.*, 1989b; Fondjo *et al.*, 1992). Le taux d'infection des vecteurs secondaires que sont *An. paludis* et *An. pharaoensis* était plus important que celui d'*An. gambiae* s.l. considéré comme vecteur majeur. L'implication de ces espèces secondaires dans la transmission du paludisme avait déjà été signalée dans plusieurs parties du pays où de manière très localisée ils entretiennent la transmission du paludisme (Robert *et al.*, 1992; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006; Tabue *et al.*, 2014).

Tableau XIV : Variations annuelles de l'indice d'infection à *P. falciparum* des espèces vectrices dans le DS de Garoua

Année	Espèces <i>Anopheles</i>						
	<i>An. gambiae</i>	<i>An. funestus</i>	<i>An. pharoensis</i>	<i>An. rufipes</i>	<i>An. paludis</i>	Total	
2011	n testé (N infecté)	888 (15)	49 (1)	344 (5)	21 (1)	0 (0)	1302 (22)
	II [IC 95%]	0,017 [0,010-0,028]	0,020 [0,004-0,107]	0,015 [0,006-0,034]	0,048 [0,008-0,227]	-	0,0169 [1,12-2,55]
2012	n testé (N infecté)	661 (8)	56 (1)	12 (0)	39 (1)	51 (2)	819 (12)
	II [IC 95%]	0,012 [0,006-0,024]	0,018 [0,003-0,094]	-	0,026 [0,005-0,132]	0,039 [0,011-0,132]	0,0147 [0,84-2,54]
2013	n testé (N infecté)	1408 (32)	158 (4)	230 (4)	43 (1)	88 (3)	1927 (44)
	II [IC 95%]	0,023 [0,016-0,032]	0,025 [0,010-0,063]	0,017 [0,007-0,044]	0,023 [0,004-0,121]	0,034 [0,012-0,095]	0,0228 [1,71-3,05]
2014	n testé (N infecté)	318 (6)	70 (2)	14 (1)	0 (0)	7 (0)	409 (9)
	II [IC 95%]	0,019 [0,009-0,041]	0,029 [0,008-0,098]	0,071 [0,013-0,315]	-	0	0,0220 [1,16-4,13]
Total	n testé (N infecté)	3275 (61)	333 (8)	600 (10)	103 (3)	146 (5)	4457 (87)
	II [IC 95%]	0,019 [0,015-0,024]	0,024 [0,012-0,047]	0,017 [0,009-0,030]	0,029 [0,010-0,082]	0,034 [0,015-0,078]	0,0195 [1,59-2,40]

n = Nombre de moustiques testés et infectés, *II* = Indice d'Infection, *IC* = Intervalle de Confiance

Tableau XV : Variations annuelles de l'indice d'infection à *P. falciparum* des espèces vectrices dans le DS de Pitoa

Année		Espèces <i>Anopheles</i>					Total
		<i>An. gambiae</i>	<i>An. funestus</i>	<i>An. pharoensis</i>	<i>An. rufipes</i>	<i>An. paludis</i>	
2011	N testé (N infecté)	1133 (39)	161 (5)	169 (8)	99 (4)	74 (2)	1636 (58)
	II [IC 95%]	0,034 [0,025-0,047]	0,031 [0,013-0,071]	0,047 [0,024-0,091]	0,040 [0,016-0,099]	0,027 [0,007-0,093]	0,0355 [2,75-4,56]
2012	N testé (N infecté)	1045 (26)	88 (2)	31 (0)	164 (1)	60 (0)	1388 (29)
	II [IC 95%]	0,025 [0,017-0,036]	0,023 [0,006-0,079]	-	0,006 [0,001-0,034]	-	0,0209 [1,46-2,98]
2013	N testé (N infecté)	396 (14)	36 (1)	54 (2)	19 (1)	49 (2)	554 (19)
	II [IC 95%]	0,035 [0,021-0,058]	0,028 [0,005-0,142]	0,037 [0,010-0,125]	0,053 [0,009-0,246]	0,041 [0,011-0,137]	0,0343 [2,21-5,29]
2014	N testé (N infecté)	859 (11)	31 (0)	10 (0)	14 (0)	0 (0)	914 (11)
	II [IC 95%]	0,013 [0,007-0,023]	0	0	0	-	0,0120 [0,67-2,14]
Total	N testé (N infecté)	3433 (90)	316 (8)	264 (10)	296 (6)	183 (4)	4392 (118)
	II [IC 95%]	0,026 [0,021-0,032]	0,025 [0,013-0,049]	0,038 [0,021-0,068]	0,020 [0,009-0,044]	0,022 [0,009-0,055]	0,0269 [2,25-3,21]

n = Nombre de moustiques testés et infectés, *II* = Indice d'Infection, *IC* = Intervalle de Confiance

Tableau XVI : Variations annuelles de l'indice d'infection à *P. falciparum* espèces vectrices dans le DS de Mayo Oulo

Année		Espèces <i>Anopheles</i>					Total
		<i>An. gambiae</i>	<i>An. funestus</i>	<i>An. pharoensis</i>	<i>An. rufipes</i>	<i>An. paludis</i>	
2011	N testé (N infecté)	492 (19)	22 (2)	36 (0)	35 (2)	0 (0)	585 (23)
	II [IC 95%]	0,039 [0,025-0,060]	0,091 [0,025-0,278]	-	0,057 [0,016-0,186]	-	0,0393 [2,63-5,83]
2012	N testé (N infecté)	122 (1)	40 (1)	2 (0)	155 (4)	3 (0)	322 (6)
	II [IC 95%]	0,008 [0,001-0,045]	0,025 [0,004-0,129]	-	0,026 [0,010-0,064]	-	0,0186 [0,86-4,00]
2013	N testé (N infecté)	157 (8)	33 (1)	24 (1)	49 (2)	13 (0)	276 (12)
	II (IC 95%)	0,051 [0,026-0,097]	0,030 [0,005-0,153]	0,042 [0,007-0,202]	0,041 [0,011-0,137]	-	0,0435 [2,50-7,44]
2014	N testé (N infecté)	24 (0)	0 (0)	29 (1)	0 (0)	0 (0)	53 (1)
	II [IC 95%]	0	-	0,034 [0,006-0,172]	-	-	0,0189 [0,33-9,94]
Total	N testé (N infecté)	795 (28)	95 (4)	91 (2)	239 (8)	16 (0)	1236 (42)
	II [IC 95%]	0,035 [0,024-0,050]	0,042 [0,016-0,103]	0,022 [0,006-0,077]	0,033 [0,017-0,065]	0	0,0340 [2,52-4,56]

n = Nombre de moustiques testés et infectés, *II* = Indice d'Infection, *IC* = Intervalle de Confiance

III.2.5.6 Taux d'inoculation entomologique (TIE)

a) *Situation globale*

Dans les trois DS, cinq espèces anophéliennes (*An. gambiae* s.l., *An. funestus*, *An. pharoensis*, *An. rufipes* et *An. paludis*) ont contribué à la transmission du paludisme. Les TIE variaient d'une année à l'autre et d'un district à un autre, avec un maximum observé en 2011 à Mayo Oulo. En effet, en cette période de l'année, *An. gambiae* s.l. était susceptible d'infliger à un homme vivant dans cette zone 1,52 piqûres infectantes par nuit.

b) *Transmission du paludisme dans les trois districts de santé*

Dans le DS de Garoua, quel que soit l'année, *An. gambiae* s.l. s'est révélé être le vecteur majeur du paludisme en saison pluvieuse. Une personne était susceptible en cette période de recevoir de 0 à 0,389 piqûre infectante par homme par nuit (pi/h/n) (Tableau XVII). Les autres espèces anophéliennes ont joué un rôle secondaire dans la transmission. Les TIE de ce vecteur suivant les années d'étude (0,340 pi/h/n en 2011, 0,108 pi/h/n en 2012, 0,389 pi/h/n en 2013 et de 0,079 pi/h/n en 2014) n'ont pas été significatifs ($\text{Chi}_2 = 0,955$; ddl = 3; $p = 0,33$). Cette transmission du paludisme en zone urbaine et périurbaine avait déjà été signalée (Fondjo *et al.*, 1992; Manga *et al.*, 1992). En effet, l'agriculture en milieu périurbaine et l'adaptation des vecteurs à des gîtes pollués des milieux urbains sont les facteurs favorables à la transmission du paludisme en milieu urbain. C'est ainsi qu'*An. gambiae* s.l. montre une tendance inquiétante par son adaptation à des gîtes pollués de l'environnement urbain (Klinkenberg *et al.*, 2005) et a été rencontré dans ces types de gîtes à Douala et Yaoundé (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). L'implication des autres espèces anophéliennes secondaires comme *An. pharoensis* et *An. paludis* dans la transmission du paludisme corrobore de précédentes études menées au Cameroun (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2006).

Quant au DS de Pitoa, le TIE a été plus important chez *An. gambiae* s.l. qui était susceptible d'infliger entre 0 et 1,368 pi/h/n (Tableau XVII). *Anopheles pharoensis*, *An. funestus*, *An. rufipes* et *An. paludis* ont été des vecteurs secondaires. Les TIE ont été plus importants en 2011 comparés aux autres années. La différence des TIE d'*An. gambiae* s.l. suivant les années d'étude (1,368 pi/h/n en 2011, 0,604 pi/h/n en 2012, 0,782pi/h/n en 2013 et de 0,28 pi/h/n en 2014) n'était pas significative ($\text{Chi}_2 = 0,823$ ddl = 3; $p = 0,843$). Dans ce district, la transmission du paludisme était plus importante qu'à Garoua, avec pour vecteur majeur *An. gambiae* s.l., suivi d'*An. pharoensis*. Le rôle joué dans la transmission du paludisme

par *An. funestus*, *An. rufipes*, *An. paludis* était moins important. La forte intensité de la transmission observée était sans doute à mettre au compte des pratiques agricoles ayant cours dans le DS, et particulièrement la riziculture. Les systèmes irrigués nécessaires à la culture du riz avec les zones inondées que cela engendre constituent des gîtes permanents propices au développement de la faune anophélienne. Cette forte densité anophélienne a été également observée dans la zone rizicole de Gounougou (Robert *et al.*, 1992; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2008), avec *An. arabiensis* comme espèce prédominante en saison sèche, et *An. funestus* en saison de pluie. Malgré cette forte densité, la transmission n'était pas importante. La situation était similaire à Pitoa où à l'exception d'*An. gambiae* s.l., le TIE des autres espèces vectrices était très faible. Selon Robert *et al.*, (1992), cette faible transmission en présence d'une forte densité de la population anophélienne en zone rizicole serait due à l'existence d'une population vectrice essentiellement jeune. Cependant, le taux de parturité enregistré dans le DS de Pitoa témoignait plutôt de la présence d'une population vectrice vieillissante (Figure 33). En zone rizicole, de telles observations de la faible transmission du paludisme en présence d'une densité importante de vecteur avaient déjà été faites (Ijumba & Lindsay, 2001), et désignée par «*paddy paradox*». En effet, l'introduction d'un système rizicole irrigué augmente indéniablement la densité anophélienne dans une zone donnée. Toutefois, la transmission du paludisme peut demeurer faible. Ainsi, une forte densité anophélienne ne signifie pas automatiquement plus de transmission de la maladie. Cette faible transmission du paludisme s'expliquerait par l'amélioration des revenus générés de la production agricole, les populations de ces zones dédiant une part importante des revenus à la prévention contre la maladie (MILDA, prise en charge correcte) en particulier et à leur santé en général (Keiser *et al.*, 2005). La composition de la population vectrice dans cette zone rizicole est concordante avec les observations faites dans les zones écologiques similaires (Dossou-Yovo *et al.*, 1994).

Dans le DS de Mayo Oulo, *An. gambiae* s.l. était le vecteur majeur du paludisme en saison pluvieuse sur les quatre années d'étude comme observé dans les deux autres districts. Toutefois, en 2012, *An. rufipes* s'est avéré être le vecteur majeur dans ce district avec un TIE de 0,286 pi/h/n contre 0,028 pi/h/n pour *An. gambiae* s.l. (Tableau XVII). Quant à *An. pharoensis* et *An. funestus*, ils ont joués des rôles secondaires dans la transmission. La faible implication d'*An. funestus* dans la transmission est inhabituelle dans cette zone de transmission saisonnière où il constitue avec *An. arabiensis* les principaux vecteurs (Robert *et al.*, 1992; Fondjo, 1996). Ceci s'expliquerait par la période d'étude correspondant à la saison pluvieuse. En effet, *An. funestus* est moins dépendant de la pluie et est de ce fait abondant durant la saison sèche quand la densité

d'*An. gambiae* s.l. tend à diminuer. Il sert ainsi de transition dans la transmission du paludisme entre la saison sèche et la saison pluvieuse (Gillies & DeMeillon, 1968; Cohuet *et al.*, 2004). Les différences des TIE d'*An. gambiae* s.l. en fonction des années d'étude (1,520 pi/h/n en 2011, 0,028 pi/h/n en 2012, 0,318 pi/h/n en 2013 et 0 pi/h/n en 2014) n'ont pas été significatives ($\text{Chi}_2 = 2,011$; ddl = 2; $p = 0,366$). Pour ce qui est d'*An. rufipes*, les TIE en 2011, 2012 et 2013 ont été respectivement de 0,481 pi/h/n, 0,286 pi/h/n et de 0,320 pi/h/n, avec une différence non significative ($\text{Chi}_2 = 0,06$; ddl = 2; $p = 0,97$). La particularité de ce district a été la forte densité d'*An. rufipes* et son implication dans la transmission. Dans les villages comme Bouyoum et Bossom, la densité d'*An. rufipes* a été plus importante que celle d'*An. gambiae* (Tableau XI). Comme dans les deux DS, la transmission du paludisme a été assurée par *An. gambiae* s.l. Toutefois, *An. rufipes* a tout au long des quatre années d'étude significativement contribué à la transmission de la maladie. Cette espèce semble donc jouer localement un rôle majeur dans la transmission du paludisme dans le DS de Mayo Oulo.

c) *Anopheles (Cellia) rufipes (Gough), 1910, un nouveau vecteur du paludisme au Cameroun*

Moins de 20 espèces anophéliennes sur les 140 présents en Afrique subsaharienne sont susceptibles de transmettre le paludisme à l'homme (Hervy *et al.*, 1998). Au Cameroun, *An. gambiae* s.s. *An. arabiensis* et *An. funestus* sont largement rependus et constituent les vecteurs majeurs du paludisme. Si les vecteurs majeurs sont connus pour leur rôle prépondérant dans la transmission du paludisme, les vecteurs secondaires quant à eux peuvent se révéler être d'une importance locale (Mouchet *et al.*, 2004). C'est ainsi que l'on a observé dans la région rizicole de Ndop qu'*An. ziemanni* était aussi efficace qu'*An. gambiae* s.l., dans la transmission du paludisme (Tabue *et al.*, 2014). Des études antérieures ont décrit *An. rufipes* comme étant zoophile (Gillies & DeMeillon, 1968; Gillies & Coetzee, 1987) et plus encore dans les zones rizicoles (Dolo *et al.*, 2004).

Tableau XVII : Variations annuelles du taux TIE des espèces anophéliennes dans les trois districts de santé

<i>Anopheles</i>	2011			2012			2013			2014		
	TI	ma (p/h/n)	TIE (pi/h/n)	TI	ma (p/h/n)	TIE (pi/h/n)	TI	ma (p/h/n)	TIE (pi/h/n)	TI	ma (p/h/n)	TIE (pi/h/n)
<i>DS Garoua</i>												
<i>An. gambiae</i>	0,017	20,137	0,34	0,012	8,902	0,108	0,023	17,118	0,389	0,019	4,206	0,079
<i>An. funestus</i>	0,02	1,137	0,023	0,018	0,775	0,014	0,025	1,922	0,049	0,029	1,02	0,029
<i>An. pharoensis</i>	0,015	6,225	0,09	0	0,118	0	0,017	2,716	0,047	0,071	0,833	0,06
<i>An. rufipes</i>	0,048	0,657	0,031	0,026	0,657	0,017	0,023	0,441	0,01	-	0,539	-
<i>An. paludis</i>	0	0,029	-	0,039	1,186	0,047	0,034	1,118	0,038	0	0,324	0
<i>DS Pitoa</i>												
<i>An. gambiae</i>	0,034	39,736	1,368	0,025	24,264	0,604	0,035	22,111	0,782	0,013	21,88	0,28
<i>An. funestus</i>	0,031	4,472	0,139	0,023	2,014	0,046	0,028	0,944	0,026	0	0,9	0
<i>An. pharoensis</i>	0,047	4,222	0,2	0	0,653	0	0,037	2,875	0,106	0	2,05	0
<i>An. rufipes</i>	0,04	5,486	0,222	0,006	3,569	0,022	0,053	0,472	0,025	0	0,51	0
<i>An. paludis</i>	0,027	1,806	0,049	0	1,944	0	0,041	1,278	0,052	-	0,04	-
<i>DS Mayo Oulo</i>												
<i>An. gambiae</i>	0,039	39,361	1,52	0,008	3,472	0,028	0,051	6,241	0,318	0	11,163	0
<i>An. funestus</i>	0,091	1,889	0,172	0,025	1,278	0,032	0,03	1,037	0,031	-	1	-
<i>An. pharoensis</i>	0	2,056	-	0	0,083	0	0,042	1,056	0,044	0,034	0,667	0,023
<i>An. rufipes</i>	0,057	8,417	0,481	0,026	11,083	0,286	0,041	7,852	0,32	-	10,833	-
<i>An. paludis</i>	0	0,028	-	0	0,111	0	0	0,481	0	-	0,333	-

ma= agressivité, pi/h/n= nombre de piqûres infectante par homme par nuit, TIE= taux d'inoculation entomologique, pi/h/n= nombre de piqûres infestantes par homme par nuit, TI = Taux d'infection.

Cependant, d'autres études ont montré qu'*An. rufipes* était faiblement anthropophile (Bruce-Chwatt *et al.*, 1960; Robert *et al.*, 1988; Bigoga *et al.*, 2007a). Son rôle dans la transmission du paludisme a été démontré dans le Nord et le Sud du Burkina Faso (Holstein, 1949) et plus récemment, des oocystes de *Plasmodium* ont été détectés chez cette espèce, suggérant son potentiel rôle de vecteur du paludisme (Da *et al.*, 2013).

Anopheles rufipes a été présente dans tous les DS, et représentaient 3,28% des espèces anophéliennes collectés dans le DS de Garoua, 6,79% dans le DS de Pitoa et 31,78% dans celui de Mayo Oulo. Dans les trois DS, *An. rufipes* contribuait à la transmission du paludisme, et quelquefois était plus efficace qu'*An. gambiae* s.l.

III.2.6 Conclusion partielle

Globalement, la densité culicidienne a été très élevée dans les trois DS. La nuisance culicidienne était majoritairement assurée par les moustiques du genre *Culex* spp dont la densité a été élevée quel que soit le village et le DS considéré. Quant aux anophèles, la diversité des espèces était plus prononcée dans le DS de Mayo Oulo qu'à Pitoa et Garoua. *Anopheles gambiae* s.l. a été l'espèce anophélienne majoritaire dans tous les villages des trois districts. Sa densité a été plus élevée dans le DS de Pitoa avec un nombre de 10.628, contre 7.132 à Garoua et 3.817 à Mayo Oulo. Bien que présent dans tous les DS, une forte densité d'*An. rufipes* a été collectée dans le DS de Mayo. La transmission du paludisme était assurée par cinq espèces anophéliennes; il s'agissait par ordre d'importance décroissante d'*An. gambiae* s.l., *An. rufipes*, *An. pharoensis*, *An. funestus*, *An. paludis*. *Anopheles gambiae* s.l. était le vecteur majeur responsable de la transmission du paludisme. Le risque de transmission du paludisme était plus élevé dans le DS de Mayo Oulo, suivi du DS de Pitoa. *Anopheles rufipes* généralement considéré comme zoophile jouait un rôle d'importance locale dans la transmission du paludisme et de ce fait constitue un nouveau vecteur secondaire au Cameroun.

III.3 Prévalence du paludisme dans la population d'étude

III.3.1 Caractérisation de l'échantillon

Sur les deux années de l'étude parasitologique, un total de 6278 enfants âgés de 6 à 120 mois a été recruté dont 3090 de sexe masculin et 3.188 de sexe féminin, soit globalement une sex-ratio de 1,032 en faveur des enfants de sexe féminin. Les enfants ont été plus nombreux

dans le DS de Garoua, soit 2.709, suivi de Pitoa avec un total de 2.039 et enfin 1.530 à Mayo Oulo (Tableau XVIII).

Tableau XVIII : Répartition des enfants par sexe, année et par district de santé

Année	District de santé	n (%)	sexe		TOTAL
			Féminin	Masculin	
2013	Garoua	n (%)	713 (51,2)	680 (48,8)	1393 (100)
	Pitoa	n (%)	527 (50,9)	509 (49,1)	1036 (100)
	Mayo Oulo	n (%)	394 (51,8)	367 (48,2)	761 (100)
	TOTAL	n (%)	1634 (51,2)	1556 (48,8)	3190 (100)
2014	Garoua	n (%)	657 (49,92)	659 (50,08)	1316 (100)
	Pitoa	n (%)	516 (51,45)	487 (48,55)	1003 (100)
	Mayo Oulo	n (%)	381 (49,54)	388 (50,45)	769 (100)
	TOTAL	n (%)	1554 (50,32)	1534 (49,68)	3088 (100)
Total	Garoua	n (%)	1370 (50,57)	1339 (49,43)	2709 (100)
	Pitoa	n (%)	1043 (51,15)	996 (48,85)	2039 (100)
	Mayo Oulo	n (%)	775 (50,65)	755 (49,35)	1530 (100)
	TOTAL	n (%)	3188 (50,78)	3090 (49,22)	6278 (100)

n =effectif ; (%) =pourcentage

En 2013, la moyenne des âges dans le DS de Garoua, Pitoa et Mayo oulo était respectivement de 59,34 (ET=33,2) mois, 55,78 (ET=30) mois et de 55,33 (ET=29,91). Cette moyenne était en 2014 de 57,76 (ET=33,31) mois, 58,24 (ET=33,18) mois et de 57, 68 (ET=33,18) mois respectivement à Garoua, Pitoa et Mayo oulo.

La répartition des tranches d'âge s'est faite en s'inspirant des recommandations de l'OMS, (1964) et de la répartition de Bruce-Chwatt, (1985). Ces tranches d'âge étaient représentées de manière identique dans les trois DS, la tranche de 24 à 59 mois constituant à chaque fois la classe la plus représentative, quel que soit l'année (Tableau XIX).

Tableau XIX : Répartition des enfants par tranche d'âge et par district de santé

Année	Tranche d'âge	Garoua n (%)	Pitoea n (%)	Mayo oulo n (%)	TOTAL n (%)
2013	INF 24	165 (11,8)	122 (11,8)	99 (13)	386 (12,1)
	24-59 Mois	530 (38)	450 (43,4)	301 (39,6)	1281 (40,2)
	60-94 Mois	395 (28,4)	291 (28,1)	237 (31,1)	923 (28,9)
	95-120 Mois	303 (21,8)	173 (16,7)	124 (16,3)	600 (18,8)
	TOTAL	1393 (100)	1036 (100)	761 (100)	3190 (100)
2014	INF 24	172 (13,07)	107 (10,67)	87 (11,31)	366 (11,85)
	24-59 Mois	538 (40,88)	415 (41,38)	316 (41,09)	1269 (41,09)
	60-94 Mois	320 (24,32)	288 (28,71)	219 (28,48)	827 (26,78)
	95-120 Mois	286 (21,73)	193 (19,24)	147 (19,12)	626 (20,27)
	TOTAL	1316 (100)	1003 (100)	769 (100)	3088 (100)
Total	INF 24	337 (12,44)	229 (11,23)	186 (12,16)	752 (11,98)
	24-59 Mois	1068 (39,42)	865 (42,42)	617 (40,33)	2550 (40,62)
	60-94 Mois	715 (26,39)	579 (28,40)	456 (29,80)	1750 (27,88)
	95-120 Mois	589 (21,74)	366 (17,95)	271 (17,71)	1226 (19,53)
	Total	2709 (100)	2039 (100)	1530 (100)	6278 (100)

n = effectif ; (%) = pourcentage

III.3.2 Détermination de la densité parasitaire dans la population d'étude

III.3.2.1 Répartition en classe de densité parasitaire

Un total de 6278 lames a été confectionné à partir du sang prélevé chez les enfants. Un total de 6244 (99,46%) de ces lames a pu être exploité par microscopie.

Les densités parasitaires (DP) ont été réparties selon la classification de Bruce-Chwatt, (1958) contenue dans le Tableau XX, chaque classe de densité parasitaire correspondant à un intervalle de DP.

Globalement, sur les 6278 lames exploitables 1945 d'entre elles étaient positives, soit un pourcentage d'enfant infectés de 30,90%. Bien que l'examen standard de la goutte épaisse permette aisément un diagnostic de l'infection palustre chez des sujets non immunisés, car la densité parasitaire est habituellement élevée, il est souvent insuffisant pour diagnostiquer ceux qui vivent dans des zones endémiques dont la densité parasitaire est habituellement plus faible (Trape *et al.*, 1985). Selon les résultats de la goutte épaisse, la densité parasitaire était nulle chez près de 70% des enfants. Cependant, l'importance d'un résultat négatif varie en fonction des conditions de l'examen et de l'état immunitaire du sujet (Bruce-Chwatt, 1963).

Tableau XX : Classification de Bruce Chwatt de la densité parasitaire.

Classes	DP (parasites / μ l de sang)
Classe 1	moins de 100
Classe 2	101 à 200
Classe 3	201 à 400
Classe 4	401 à 800
Classe 5	801 à 1600
Classe 6	1601 à 3200
Classe 7	3201 à 6400
Classe 8	6401 à 12800
Classe 9	12801 à 25600
Classe 10	25601 et plus

Dans l'ensemble, la charge parasitaire n'était pas forte. Celle-ci était inférieure ou égale à 1.600 parasites/ μ l dans 41,2 % et 35,9% des cas respectivement en 2013 et 2014 (classes 1 à 5 de Bruce Chwatt). Des variations ont été cependant observées d'un district à un autre. Sur les deux années, les fortes DP (\geq 1.601 parasites/ μ l) étaient plus fréquentes dans le DS de Pitoa, soit 65,02%, contre 58,27% à Mayo Oulo et 57,27% à Garoua (Tableau XXI).

Dans l'ensemble des DS, et sur les deux années, la fréquence des fortes DP (\geq 1601 parasite/ μ l) était de 61,5%. Ainsi, sur les 1.945 enfants qui avaient une GE positive, 1.194 avaient une forte DP. Cependant, cette proportion d'enfant pourrait être plus élevée dans la population. En effet, la détermination de la densité parasitaire par un prélèvement unique du sang périphérique, bien que considérée comme une base indispensable pour la définition et le diagnostic du paludisme est inappropriée pour la détermination précise de cette charge parasitaire (Delley *et al.*, 2000). En effet, on observe des variations journalières et hebdomadaires de la densité parasitaire du sang périphérique du fait du phénomène de séquestration (Delley *et al.*, 2000). La capacité des hématies infectées par *P. falciparum* à s'agglutiner et à adhérer à l'endothélium capillaire entraîne leur séquestration dans les tissus de la rate, du cerveau, du placenta et d'autres organes. Ce phénomène de séquestration serait la cause des attaques sévères ayant lieu avec un taux faible (ou nul) de la parasitémie périphérique ou un taux élevé ($>$ 100 000 parasites/ μ l) chez les patients ne présentant aucun symptôme (Hogh *et al.*, 1993). Cependant, la détermination de la densité parasitaire par l'examen microscopique du frottis sanguin et la goutte épaisse reste la technique de référence préconisée par l'OMS (WHO, 2000).

Tableau XXI : Répartition en classe de densité parasitaire des enfants infectés par *Plasmodium*, par district de santé

Classe de DP	2013				2014				Total			
	Garoua n (%)	Pitoea n (%)	Mayo Oulo n (%)	TOTAL n (%)	Garoua n (%)	Pitoea n (%)	Mayo Oulo n (%)	TOTAL n (%)	Garoua n (%)	Pitoea n (%)	Mayo Oulo n (%)	TOTAL n (%)
Classe 1	21 (5,3)	15 (3,1)	6 (4,9)	42 (4,2)	20 (6,4)	13 (2,6)	10 (6,9)	43 (4,5)	41 (5,8)	28 (2,9)	16 (6,0)	85 (4,4)
Classe 2	16 (4,1)	15 (3,1)	5 (4,1)	36 (3,6)	19 (6,1)	24 (4,9)	8 (5,6)	51 (5,4)	35 (5,0)	39 (4,0)	13 (4,9)	87 (4,5)
Classe 3	28 (7,1)	36 (7,5)	15 (12,3)	79 (7,9)	18 (5,7)	27 (5,5)	9 (6,3)	54 (5,7)	46 (6,5)	63 (6,5)	24 (9,0)	133 (6,8)
Classe 4	50 (12,7)	55 (11,5)	16 (13,1)	121 (12,2)	39 (12,4)	44 (8,9)	8 (5,6)	91 (9,6)	89 (12,6)	99 (10,2)	24 (9,0)	212 (10,9)
Classe 5	58 (14,8)	56 (11,7)	18 (14,8)	132 (13,3)	31 (9,9)	55 (11,2)	16 (11,1)	102 (10,7)	89 (12,6)	111 (11,4)	34 (12,8)	234 (12,0)
Classe 6	49 (12,5)	52 (10,9)	8 (6,6)	109 (11)	31 (9,9)	62 (12,6)	11 (7,6)	104 (10,9)	80 (11,3)	114 (11,7)	19 (7,1)	213 (11,0)
Classe 7	48 (12,2)	68 (14,2)	16 (13,1)	132 (13,3)	34 (10,8)	56 (11,4)	25 (17,4)	115 (12,1)	82 (11,6)	124 (12,8)	41 (15,4)	247 (12,7)
Classe 8	34 (8,7)	48 (10)	12 (9,8)	94 (9,5)	34 (10,8)	82 (16,6)	23 (16)	139 (14,6)	68 (9,6)	130 (13,4)	35 (13,2)	233 (12,0)
Classe 9	42 (10,7)	52 (10,9)	9 (7,4)	103 (10,4)	44 (14)	58 (11,8)	13 (9)	115 (12,1)	86 (12,2)	110 (11,3)	22 (8,3)	218 (11,2)
Classe 10	47 (12)	82 (17,1)	17 (13,9)	146 (14,7)	44 (14)	72 (14,6)	21 (14,6)	137 (14,4)	91 (12,9)	154 (15,8)	38 (14,3)	283 (14,6)
TOTAL	393 (100)	479 (100)	122 (100)	994 (100)	314 (100)	493 (100)	144 (100)	951 (100)	707 (100)	972 (100)	266 (100)	1945 (100)

III.3.2.2 Densité parasitaire moyenne

Globalement, la tranche d'âge de 24-59 mois était celle où la densité parasitaire moyenne (DPM) était la plus élevée, et celle-ci variait significativement entre les tranches d'âge ($P=0,006$). Cependant, suivant les DS, la variation de la DPM en fonction des tranches d'âge n'était pas significative à Garoua ($p=0.275$) et à Mayo Oulo ($p=0.371$), en comparaison au DS de Pitoa (Tableau XXII).

Tableau XXII : Répartition de la densité parasitaire moyenne par tranche d'âge

Tranche d'âge (mois)	Garoua	Pitoa	Mayo Oulo	Total
	DPM (SD)			
A INF 24	11007 (20964)	13696 (31824)	17603 (38413)	13516 (29707)
B 24-59 Mois	20683 (61930)	22914 (44566)	7995 (14047)	20128 (49193)
C 60-94 Mois	9376 (19102)	20456 (83847)	33790 (83561)	17853 (67072)
C 95-120 Mois	15182 (38642)	10651 (21583)	16783 (45859)	13376 (33117)
Pvalue	0,2755	0,0083	0,3711	0,006

DPM= Densité Parasitaire Moyenne (en nombre de parasite / μ l de sang); SD= Ecart type

III.3.3 L'indice plasmodique dans les districts de santé

De manière globale, les indices plasmodiques (IP) les plus élevés ont été retrouvés dans le DS de Pitoa et dans la plupart de ses villages, et la maladie y était hyper endémique (IP entre 50 et 70%), avec un IP de 47,83%. Ceci s'expliquerait sans doute par la forte densité anophélienne qui y a été rencontrée (Tableau X). L'IP était plus importante à Garoua qu'à Mayo Oulo (Tableau XXIII). La disparité dans ces IP selon les DS était importante autant en 2013 ($\text{Chi}_2=15,366$, $\text{ddl}=2$, $p=0,00046$) qu'en 2014 ($\text{Chi}_2=17,168$, $\text{ddl}=2$, $p=0,00019$). L'indice plasmodique sur les deux années était de 31,15%, faisant de mésoendémique le paludisme dans les trois DS (IP compris entre 10% et 50%).

L'indice plasmodique sur les deux années d'étude pour chacun des trois districts variait d'un village à l'autre. L'indice le plus élevé a été enregistré dans le DS de Garoua, dans le village d'Ouro Garga (67,03%). Les IP des villages de Loundrou (59,09%), Mbilga (45,12%) et Djamboutou II (40,85%), tous situés en périphérie (donc plus rural), étaient plus élevés (Figure 38). L'explication de cette forte prévalence serait en relation avec l'intensification des pratiques agricoles en zone périurbaine à Garoua. Ce phénomène a été également décrit dans

plusieurs villes Africaines et désigné comme l'une des causes de l'urbanisation du paludisme (Fondjo *et al.*, 1992; Keiser *et al.*, 2004). Le maraichage intensément pratiqué dans les zones périurbaines a été également incriminé dans la prolifération de la faune anophélienne et la pérennisation de la transmission de la maladie (Yadouleton *et al.*, 2009).

Tableau XXIII : Résultats de l'indice plasmodique par district de santé et par année

Année	Résultat GE	Garoua n (%)	Pitoe n (%)	Mayo Oulo n (%)	TOTAL n (%)
2013	GE Positif	393 (28,38)	479 (46,46)	122 (16,12)	994 (31,33)
	GE Négatif	992 (71,62)	552 (53,54)	635 (83,88)	2179 (68,67)
	TOTAL	1385 (100)	1031 (100)	757 (100)	3173 (100)
2014	GE Positif	314 (23,97)	493 (49,25)	144 (18,95)	951 (30,97)
	GE Négatif	996 (76,03)	508 (50,75)	616 (81,05)	2120 (69,03)
	TOTAL	1310 (100)	1001 (100)	760 (100)	3071 (100)
Total	GE Positif	707 (26,23)	972 (47,83)	266 (17,53)	1945 (31,15)
	GE Négatif	1988 (73,77)	1060 (52,17)	1251 (82,47)	4299 (68,85)
	TOTAL	2695 (100)	2032 (100)	1517 (100)	6244 (100)

A Pitoe, les indices les plus élevés ont été observés dans les villages de Pene (66,87%), Kirambo (61,35%) et Boussa (58,4%). Globalement, sur 12 villages, 8 avaient un indice plasmodique supérieur à 40% (Figure 38). La forte prévalence observée dans le DS de Pitoe s'expliquerait par les aménagements hydro-agricoles tels que la riziculture irriguée; ce qui entraîne la présence permanente de gîtes propices à la prolifération des vecteurs du paludisme. Il en résulte une augmentation localisée des poches d'eau constituant des gîtes appropriés pour une pléthore de vecteurs du paludisme susceptibles d'entretenir la transmission de la maladie (Fondjo *et al.*, 2002; Atangana *et al.*, 2012). En Côte d'Ivoire, la comparaison de la transmission du paludisme entre un village pratiquant la riziculture irriguée et un autre la culture pluviale avait montré l'influence de la riziculture irriguée dans l'augmentation de la densité anophélienne (Koudou *et al.*, 2005). Comme révélé par les études entomologiques, le DS de Pitoe est celui où les densités anophéliennes étaient les plus élevées (Tableau VIII). Certains bouleversements de l'environnement comme les aménagements hydro agricoles ou la construction des barrages sont sujets à influencer l'intensité de la transmission du paludisme. Au Cameroun, l'augmentation de l'incidence du paludisme a été observée à la suite de la construction des barrages de Bamendjin (Atangana *et al.*, 1979), et plusieurs cas similaires ont

été signalés en Afrique, à l'exemple du barrage de Koka en Ethiopie (Kibret *et al.*, 2009), le barrage de Gilgel Gibe en Ethiopie (Yewhalaw *et al.*, 2009).

Dans le DS de Mayo Oulo, les IP sur les deux années d'étude ont été moins importants comparés aux deux autres DS. Ces indices variaient de 2,35% à Doumo à 36% Bouyoum, avec les plus élevés dans les villages Bouyoum (35,5%), Batoum (32,32%) et Boussoum (26,22%) (Figure 38). Ce faible IP serait dû à la faible densité anophélienne vectrice, mais également à la faible anthropisation observée dans le district. Cependant, l'influence des bouleversements environnementaux sur la transmission du paludisme n'est pas systématique. Dans l'Extrême-Nord du Cameroun, l'indice plasmodique après la mise en œuvre du projet rizicole de Maga était de 23,2 % dans la zone rizicole contre 40,7 % dans la zone limitrophe témoin (Josse *et al.*, 1987). Les auteurs avaient justifié la relative faiblesse de la prévalence de l'endémicité palustre dans la zone rizicole par la prise en grande quantité d'antipaludiques. De même, plusieurs auteurs ont relevé le «*paddy paradox*» en ce sens où l'introduction des systèmes irrigués dans une aire géographique donnée augmente indéniablement la faune anophélienne, mais l'on pouvait toutefois assister à une baisse de la transmission du paludisme (Ijumba & Lindsay, 2001).

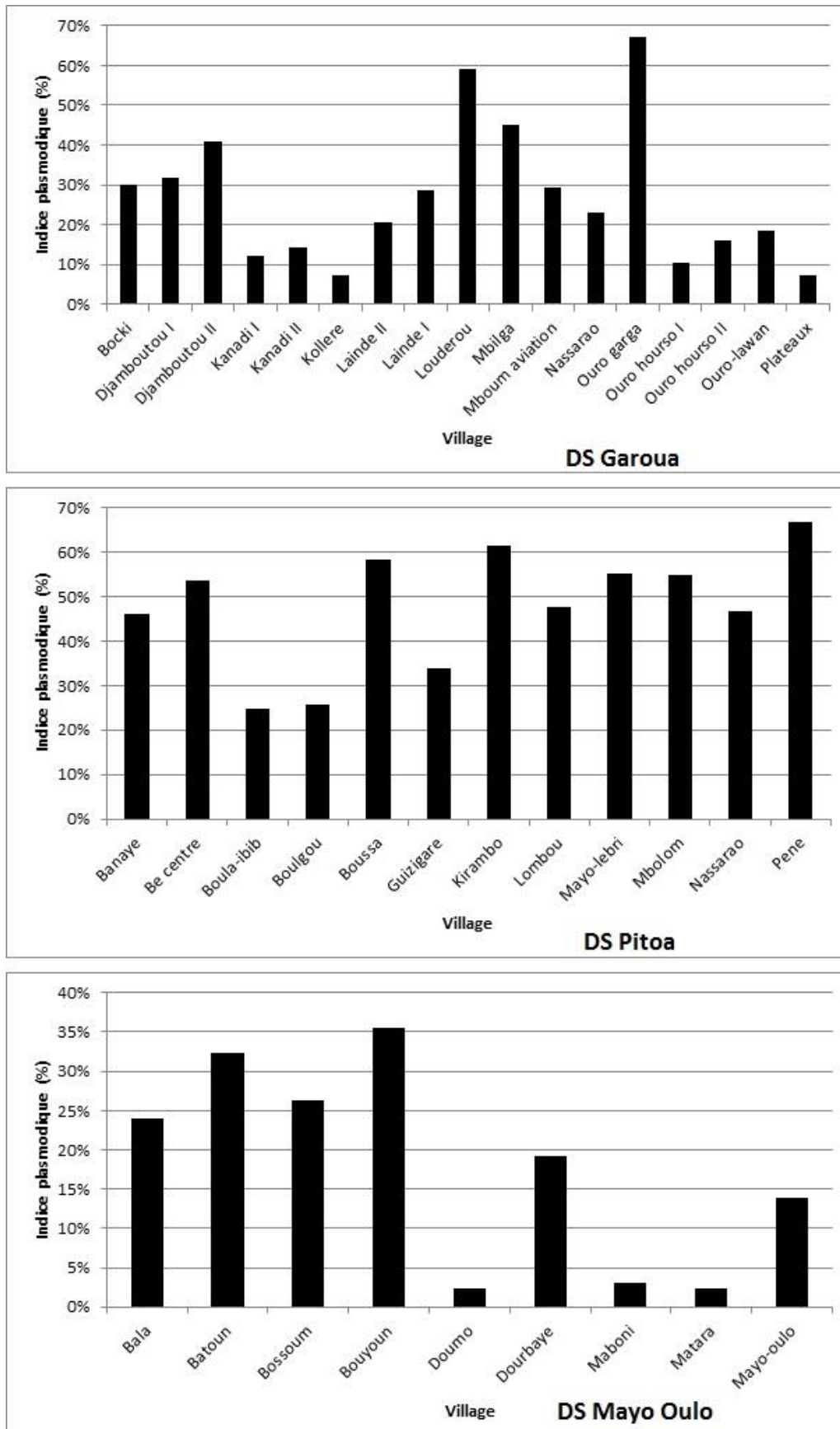


Figure 38 : Indice plasmodique selon les villages dans les trois districts de santé

III.3.4 Indice gaméocytaire dans les districts de santé

Les indices gaméocytaires (IG) les plus élevés ont été retrouvés dans les DS de Mayo Oulo en 2013 et Garoua en 2014 (Figure 39). La disparité dans ces indices gaméocytaires n'était pas importante en 2013 ($\chi^2=2,13$, $p=0,34$, $ddl=2$), ni en 2014 ($\chi^2=4,45$, $p=0,11$, $ddl=2$).

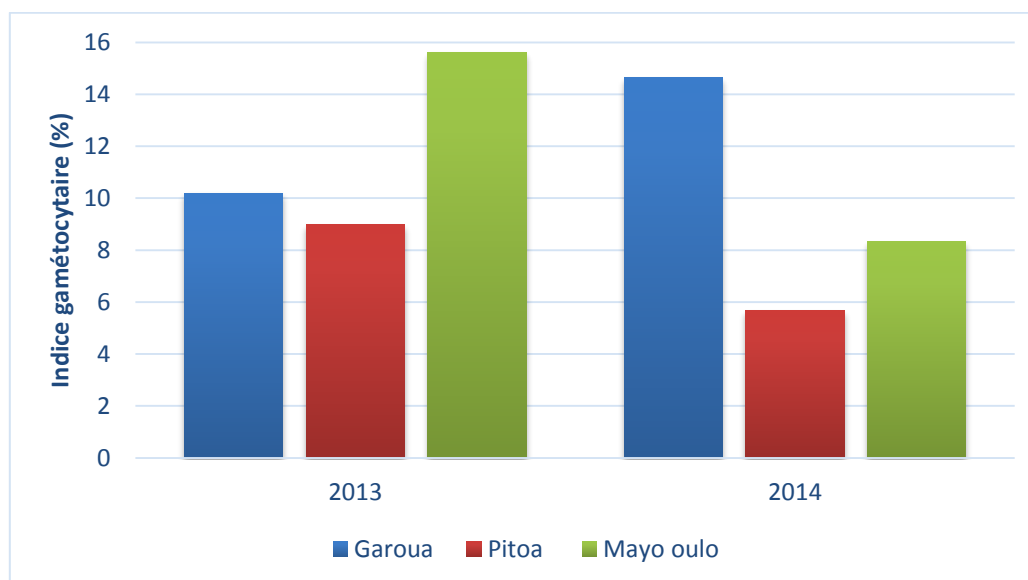


Figure 39 : Indice gaméocytaire selon les districts de santé

Les IG dans les villages du DS de Garoua oscillaient entre 4% et 22 %, avec un maximum à Kollere. Un total de 12 villages avait un IG supérieur à 10% et les 6 autres étaient en dessous des 6 %. Cet indice dans le DS de Pitoa variait entre 0% (enregistré à Boula Ibib) et 17 % dans le village de Boussa (Figure 40). Un total de 5 villages (Lombou, Mbolom, Pene, Nassarao et Mayo-lebri) avait un indice supérieur à 6 %. A Mayo Oulo, la fluctuation des IG dans les différents villages était importante. Celui-ci a été de 0% dans les villages de Bouyoum, Doumo et de Maboni. A Bala, Bossoum et Dourbaye, l'IG a été inférieur à 10%, tandis qu'il était de 27% et 50% à Mayo Oulo et Matara respectivement. L'IG global était de 9,67% et il était plus élevé dans le DS de Garoua. Cependant, l'IG était plus faible comparé à l'indice plasmodique, ce qui corrobore les précédentes observations (Taylor & Read, 1997). Dans une zone de faible transmission comme la nôtre, la proportion de forme sexuée des plasmodies et leurs densités sont importantes dans la compréhension de la transmission du paludisme (Bousema & Drakeley, 2011). L'IG élevé traduit le rôle de réservoir dans la transmission du paludisme que jouent les enfants dans les différents villages.

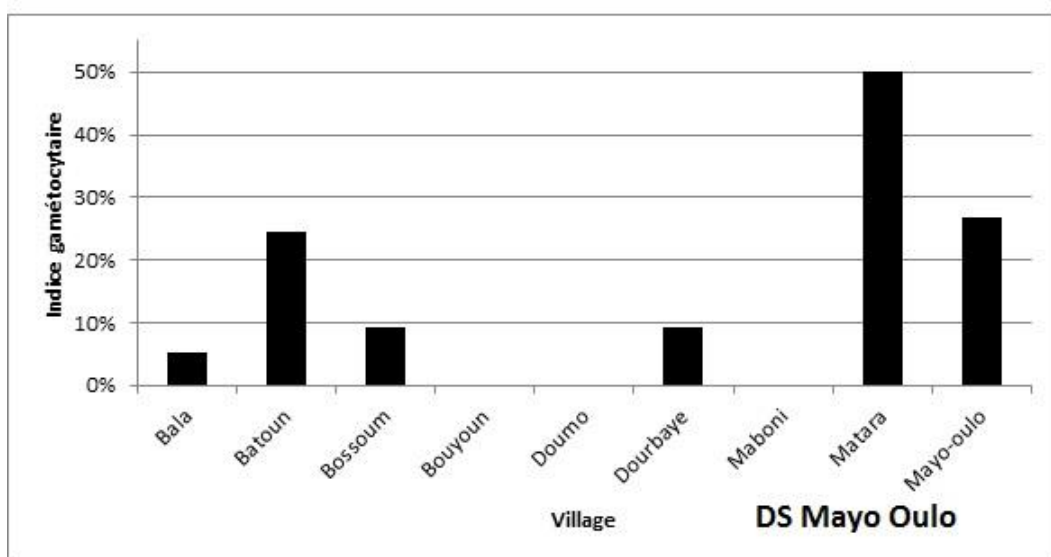
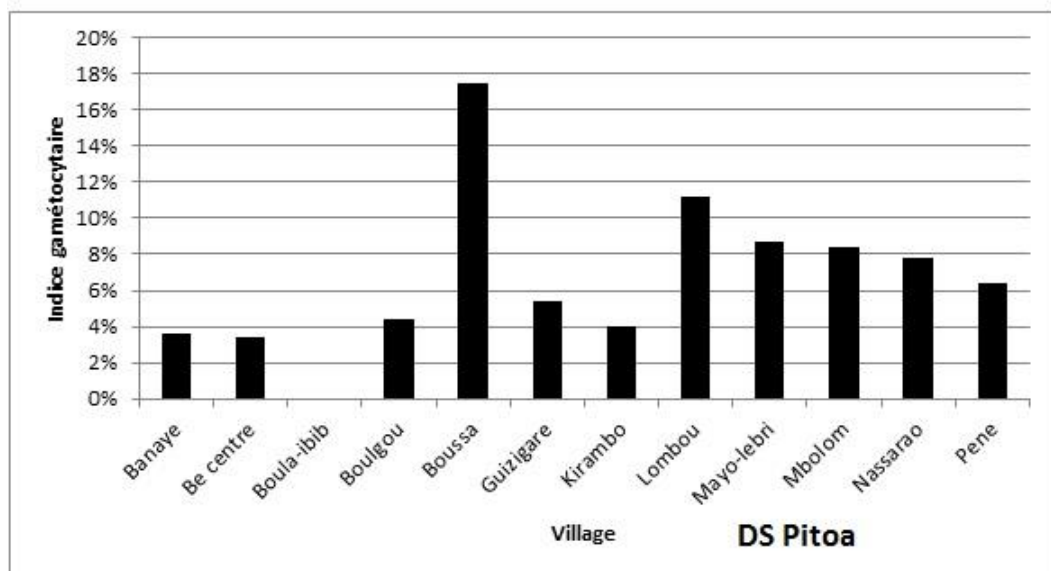
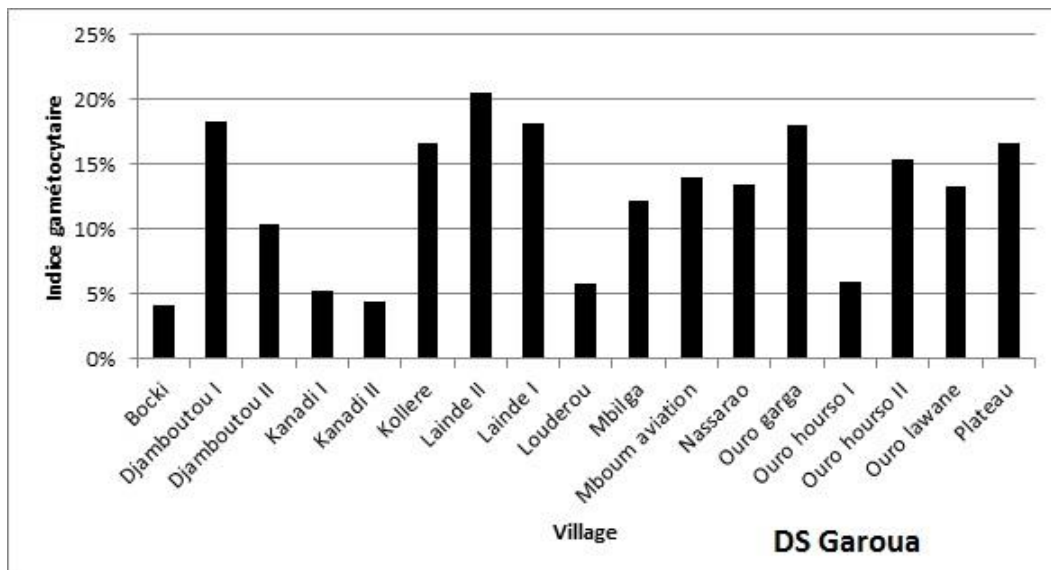


Figure 40 : Fréquence des Indice gamétocytaire des villages des trois districts de santé

III.3.5 Prévalence des espèces parasitaires

L'analyse PCR des échantillons de sang a permis d'identifier les différentes espèces plasmodiales. Deux espèces plasmodiales à savoir *P. falciparum* et *P. malariae* ont été identifiées à des fréquences très variées. Les cas d'infections dues à *P. falciparum* dans les trois districts durant les deux années représentaient un pourcentage de 91,62%. La grande prédominance de *P. falciparum* dans les infections palustres a toujours été rapportée au Cameroun. Dans la zone rizicole de Maga dans l'Extrême-Nord, 98,3% des infections palustres étaient dues à *P. falciparum* contre 95,5% dans la zone de Simbock et Etoa (Josse *et al.*, 1987; Quakyi *et al.*, 2000). Il en est de même dans d'autres pays d'Afrique subsaharienne où de fortes prévalences de *P. falciparum* ont été observées (Julvez *et al.*, 1997; Robert *et al.*, 2003; Sarpong *et al.*, 2015). *Plasmodium falciparum* est en zone sahélienne, majoritairement transmis par *An. gambiae* s.l. et *P. malariae* par *An. funestus* (Robert *et al.*, 1991). *Plasmodium malariae* a été majoritairement rencontré dans le DS de Pitoa. Les associations *P. falciparum* et *P. malariae* y ont été les plus nombreuses et représentaient 5,96 %, ce qui est élevé comparé au 2% observé à Simbock et Etoa, deux villages endémiques des environs de Yaoundé (Quakyi *et al.*, 2000). *Plasmodium ovale* n'a été identifié qu'en association avec *P. falciparum* et ceci en une seule occasion dans le DS de Pitoa (Tableau XXIV). Ces infections multiples des espèces de *Plasmodium* sont courantes dans les régions d'endémicité palustre (Mehlotra *et al.*, 2000). Les interactions de ces espèces plasmodiales en association avec les saisons, ainsi que l'intensité de la transmission du paludisme définissent les variations épidémiologiques de la maladie (Richie, 1988). Des cinq espèces plasmodiales, *P. falciparum* est celle responsable des taux élevés de morbidité et de mortalité trouvés la plupart des temps chez l'homme, suivi de *P. malariae*, *P. vivax* et *P. ovale* (Collins & Jeffery, 2007; Mueller *et al.*, 2007). Cependant, l'impact des infections mixtes de plusieurs espèces plasmodiales chez l'homme reste complexe. Certains travaux ont montré que l'infection à *P. vivax* réduisait la sévérité palustre de *P. falciparum* (Luxemburger *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 2001). Ces auteurs suggèrent que la fièvre induite par une faible densité parasitaire de *P. vivax* (DP d'environ 200 parasites/ μ l pour *P. vivax*; 1500 parasites/ μ l pour *P. falciparum*) limiterait le potentiel pathogénique de *P. falciparum*.

Bien que *P. vivax* ait été absent dans nos trois DS, deux études avaient pour la première fois mis en évidence des infections attribuées à *P. vivax* au Cameroun (Gautret *et al.*, 2001; Mangoni *et al.*, 2003). Cependant, les sujets infectés n'étaient pas d'origine africaine et des non-Camerounais. Plus tard, Kimbi *et al.*, (2005) ont signalé des infections asymptomatiques semblables à *P. vivax* chez des écoliers avec une prévalence de 33,3%, mais ce résultat était

uniquement fondé sur un diagnostic par microscopie. N'étant pas très sûrs de l'identification, les auteurs l'ont appelé «*P. vivax-like*». En 2014, dans différentes zones du Sud du pays, *P. vivax* a été mis en évidence dans les infections palustres (Fru-Cho *et al.*, 2014; Ngassa Mbenda & Das, 2014), avec des prévalences variant de 3 à 15 %, ce qui est inférieur au 33,3% de «*P. vivax-like*» décrit dans une autre étude (Kimbi *et al.*, 2005). D'autres études ont signalé *P. vivax* sur le continent africain où le parasite était initialement considéré comme inexistant ou que la population était réfractaire à l'infection. Il s'agit entre autres de l'Angola et la Guinée équatoriale (Mendes *et al.*, 2011), de Madagascar (Ménard *et al.*, 2010), de la Mauritanie (Wurtz *et al.*, 2011), de Sao Tomé et Principe et du Congo (Gautret *et al.*, 2001) et du Mali (Bernabeu *et al.*, 2012). Bien que les données sur la prévalence exacte de *P. vivax* en Afrique ne soient pas connues, ce parasite semble plus répandu dans les pays où le nombre de résidents permanents Duffy positif est élevé (Ménard *et al.*, 2010; Wurtz *et al.*, 2011). Ainsi, le statut de Duffy négatif semble ne pas être une barrière à l'infection à *P. vivax* comme précédemment observé dans différentes études (Ménard *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2011; Wurtz *et al.*, 2011).

Tableau XXIV : Distribution des espèces plasmodiales rencontrées par district de santé

Année	DS de santé	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P.f+P.m</i>	<i>P.f+P.o</i>	<i>P.m+P.o</i>	<i>P.f+P.m+P.o</i>	TOTAL
		(<i>P.f</i>)	(<i>P.m</i>)	(<i>P.o</i>)					
2013	Garoua	365 (92,9)	14 (3,6)	0 (0)	14 (3,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	393 (100)
	Pitoa	417 (87,1)	20 (4,2)	0 (0)	41 (8,6)	1 (0,2)	0 (0)	0 (0)	479 (100)
	Mayo Oulo	113 (92,6)	1 (0,8)	0 (0)	8 (6,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	122 (100)
	TOTAL	895 (90)	35 (3,5)	0 (0)	63 (6,3)	1 (0,1)	0 (0)	0 (0)	994 (100)
2014	Garoua	294 (93,63)	4 (1,27)	0 (0)	16(5,10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	314 (100)
	Pitoa	450 (91,28)	7 (1,42)	0 (0)	36 (7,30)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	493 (100)
	Mayo Oulo	143 (99,31)	0 (0)	0 (0)	1 (0,69)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	144 (100)
	TOTAL	887 (93,27)	11 (1,16)	0 (0)	53 (5,57)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	951 (100)
Total	Garoua	659 (93,21)	18 (2,55)	0 (0)	30 (4,24)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	707 (100)
	Pitoa	867 (89,20)	27 (2,78)	0 (0)	77 (7,92)	1 (0,10)	0 (0)	0 (0)	972 (100)
	Mayo Oulo	256 (96,24)	1 (0,38)	0 (0)	9 (3,38)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	266 (100)
	TOTAL	1782 (91,62)	46 (2,37)	0 (0)	116 (5,96)	1 (0,05)	0 (0)	0 (0)	1945 (100)

P.f=*Plasmodium falciparum*, *P.m*=*Plasmodium malariae*, *P.o*=*Plasmodium ovale*

III.3.6 Etude analytique

III.3.6.1 Données parasitologiques et caractéristiques de l'échantillon

Dans l'ensemble, les indices plasmodiques (IP) n'ont pas significativement varié ($p = 0,9776$) avec l'âge dans les trois DS. Cependant, à Mayo Oulo, l'IP était maximal chez les enfants de moins de 60 à 94 mois, puis décroissait (Tableau XXV).

Tableau XXV : Résultats de la GE selon la tranche d'âge des enfants et par district de santé.

Tranche d'âge (Mois)	Garoua		Pitoa		Mayo Oulo		Total	
	positif	Négatif	positif	Négatif	positif	Négatif	positif	Négatif
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
<24	52 (15,7)	279 (84,3)	78 (33,9)	150 (66,1)	23 (12,5)	161 (87,5)	153 (20,5)	590 (79,5)
24-59	240 (22,5)	827 (77,5)	380 (44,1)	481 (55,9)	105 (17,1)	509 (82,9)	725 (28,5)	1817 (71,5)
60-94	214 (30,0)	500 (70,0)	307 (53,0)	272 (47,0)	90 (19,9)	363 (80,1)	611 (35,0)	1135 (65,0)
>94	199 (34,3)	382 (65,7)	209 (57,1)	157 (42,9)	48 (18,0)	218 (82,0)	456 (37,6)	757 (62,4)
Total	705 (26,2)	1988 (73,8)	974 (47,8)	1060 (52,2)	266 (17,5)	1251 (82,5)	1945 (31,1)	4299 (68,9)

L'on se serait attendu à ce que l'acquisition de l'immunité avec l'âge entraîne une baisse progressive de la morbidité. Cette situation serait due au fait que la transmission du paludisme dans cette partie du pays soit saisonnière et par conséquent n'obéit pas à ce schéma épidémiologique. En effet, l'épidémiologie du paludisme varie suivant l'âge et l'intensité de la transmission. Dans les zones de forte endémicité, le taux de morbidité est le plus élevé chez les nourrissons et les jeunes enfants, tandis que dans les zones de transmission faible (comme nos sites d'étude) le nombre de cas est autant plus important chez les enfants plus âgés que les adultes (Carneiro *et al.*, 2010). De plus, dans de nombreux pays de l'Afrique sub-saharienne, l'acquisition du financement à partir de 2004 par le Fonds Mondial a intensifié les interventions de lutte contre le paludisme à travers les outils tels que les moustiquaires imprégnées d'insecticide (WHO, 2008). Les stratégies d'interventions actuelles ciblant la plupart du temps les enfants de moins de cinq ans laissent sans protection la tranche d'âge plus âgée. De ce fait,

la prévention de l'infection au sein d'une tranche d'âge donnée est susceptible de s'accompagner d'un excès d'épisode palustre chez ces mêmes individus devenus naïfs lorsqu'ils atteignent un âge plus avancé. L'on assisterait donc à un changement de groupe à risque palustre du fait d'une politique de prévention focalisée sur un groupe restreint de la population. Il a été par exemple remarqué dans le Sud-ouest du Sénégal, une baisse de l'incidence du paludisme de l'ordre de 30 fois entre 1996 et 2010, laquelle baisse s'est accompagnée d'un changement dans la distribution des cas, passant de 34% chez les enfants de moins de 5 ans en 1996 à 5% en 2010 (Brasseur *et al.*, 2011). De même, dans l'ouest de la Gambie, une chute rapide de la proportion des admissions des cas de paludisme entre 2003 et 2007 a été accompagnée d'une augmentation de l'âge moyen des admissions en pédiatrie qui était passé de 3,9 ans à 5,6 ans (Ceesay *et al.*, 2008). Ce changement de la répartition des cas cliniques est très probablement le résultat de l'évolution du niveau d'exposition au parasite, et donc, un développement lent de l'immunité acquise (Woolhouse, 1998).

Les résultats de la GE selon la tranche d'âge des enfants sont représentés sur la Figure 41.

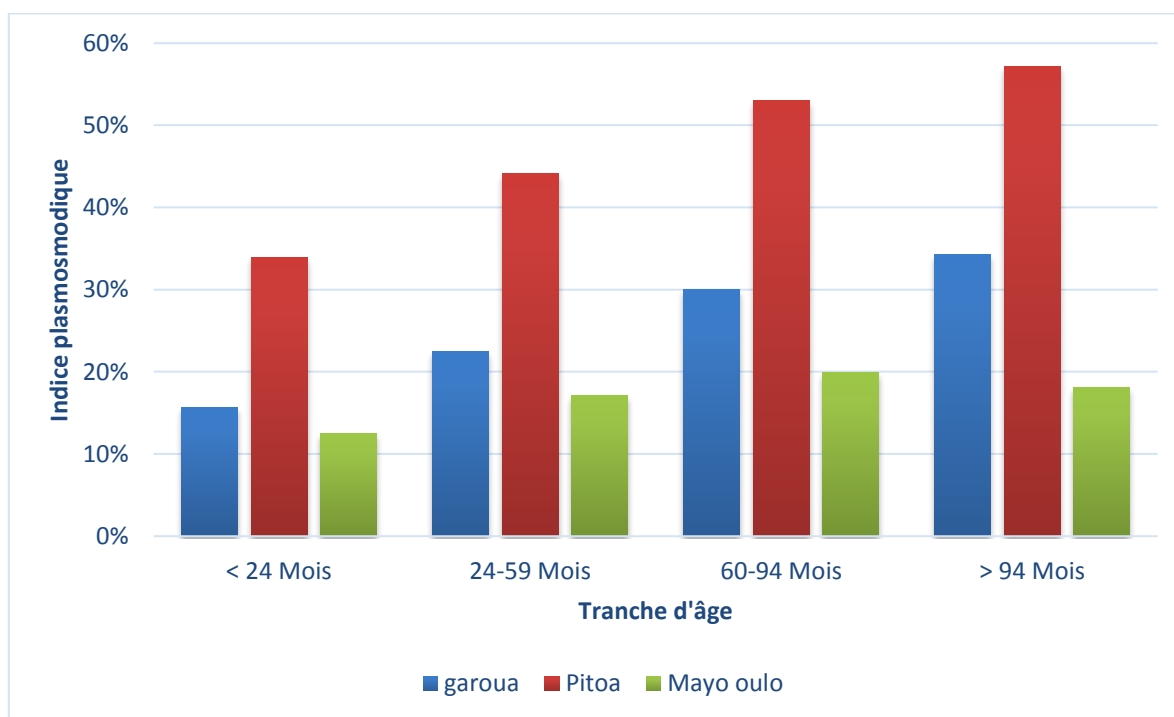


Figure 41 : Résultats de la GE selon la tranche d'âge des enfants.

III.3.6.2 Evolution de l'Indice gamétocytaire en fonction de l'âge des enfants.

Dans l'ensemble, l'Indice Gamétocytaire (IG) fluctuait énormément d'un DS à un autre, au sein d'une même tranche d'âge. Il a été observé une augmentation de l'IG avec l'âge dans le DS de Garoua, tandis que dans les deux autres districts, il décroissait avec l'âge (Figure 42).

En fonction de l'âge, les enfants de 60 à 94 mois constituaient le réservoir pour une potentielle transmission dans le DS de Garoua et de Pitoa, et ceux de moins de 24 mois dans le DS de Mayo Oulo. Les enfants sont habituellement considérés comme les réservoirs primaires de la transmission, ceci du fait de la prévalence et la densité gamétocytaire élevée (Drakeley *et al.*, 2006). L'âge et le DS influençaient l'indice gamétocytaire, ce qui corrobore les observations faites dans d'autres études (Doolan *et al.*, 2009).

La Figure 42 montre les résultats de l'Indice Gamétocytaire en fonction du sexe des enfants.

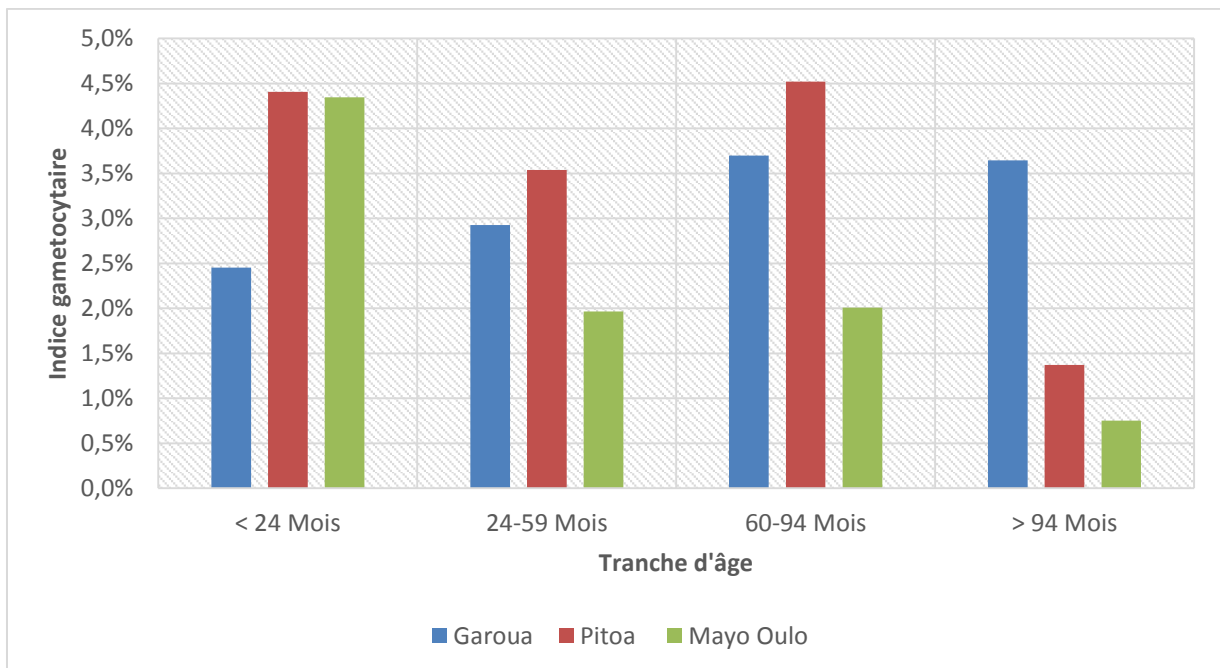


Figure 42 : Indice gamétocytaire selon la tranche d'âge des enfants.

III.3.7 Prévalence de la fièvre et de la fièvre associée au paludisme

La prévalence de la fièvre (température axillaire $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$) chez les enfants était respectivement de 18,3 %, 22,7 % et 15,3% dans le DS de Garoua, Pitoa et Mayo Oulo ($\text{Chi}^2 = 1,48$; $\text{ddl}=2$; $p=0,478$), pour une prévalence globale de 19 % (Tableau XXVI). Cependant, parmi les cas de fièvres enregistrés, ceux associés à une infection à *Plasmodium* n'étaient que de 40,95% (482/1177), soit 33,20% (162/488) à Garoua, 54,68% (251/459) à Pitoa et 30% (69/230) à Mayo Oulo. Ceci met en lumière d'autres épisodes de fièvres non attribuables aux infections palustres dans les zones d'études. L'étiologie des fièvres chez les enfants est difficile du fait de leur faible immunité qui les expose à diverses infections opportunes. Cependant, ces infections peuvent être liées à des infections opportunistes du fait de la malnutrition. En effet, le problème de malnutrition chez les nourrissons et enfants de moins de 5 ans se pose avec acuité dans la Région du Nord-Cameroun où 70% d'enfants souffrent de malnutrition (UNICEF, 2012).

Tableau XXVI : Cas asymptomatiques et de fièvres par district de santé et par tranche de densité parasitaires.

Classe de DP	DS Garoua		DS Pitoa		DS Mayo Oulo		Total	
	n Asymptomatique (%)	n Fièvre (%)	n Asymptomatique (%)	n Fièvre (%)	n Asymptomatique (%)	n Fièvre (%)	n Asymptomatique (%)	n Fièvre (%)
0	1642 (83,4)	326 (16,6)	850 (80,3)	208 (19,7)	1076 (87,0)	161 (13,0)	3568 (83,7)	695 (16,3)
1 - 400	103 (84,4)	19 (15,6)	105 (80,8)	25 (19,2)	42 (79,2)	11 (20,8)	250 (82,0)	55 (18,0)
401-800	69 (78,4)	19 (21,6)	74 (75,5)	24 (24,5)	19 (79,2)	5 (20,8)	162 (77,1)	48 (22,9)
801-1600	76 (85,4)	13 (14,6)	87 (79,1)	23 (20,9)	27 (79,4)	7 (20,6)	190 (81,5)	43 (18,5)
1601-3200	68 (85,0)	12 (15,0)	80 (70,2)	34 (29,8)	17 (89,5)	2 (10,5)	165 (77,5)	48 (22,5)
3201-6400	67 (83,8)	13 (16,3)	101 (1,5)	23 (18,5)	32 (78,0)	9 (22,0)	200 (81,6)	45 (18,4)
6401-12800	48 (72,7)	18 (27,3)	101 (77,7)	29 (22,3)	25 (71,4)	10 (28,6)	174 (75,3)	57 (24,7)
12801-25600	56 (67,5)	27 (32,5)	81 (74,3)	28 (25,7)	14 (63,6)	8 (36,4)	151 (70,6)	63 (29,4)
> 25600	49 (54,4)	41 (45,6)	88 (57,5)	65 (42,5)	21 (55,3)	17 (44,7)	158 (56,2)	123 (43,8)
Total	2178 (81,7)	488 (18,3)	1567 (77,3)	459 (22,7)	1273 (84,7)	230 (15,3)	5018 (81,0)	1177 (19,0)

La prévalence des cas de fièvre liée aux infections à *Plasmodium* variait significativement d'un DS à un autre ($\text{Chi}^2 = 9,17$; $\text{ddl}=2$; $p=0,0102$). Dans les trois DS, la tranche de densité parasitaire supérieure à 25600 parasites/ μl était celle où la prévalence des fièvres était la plus

élevée. Ainsi donc, l'état fébrile était lié à la forte densité parasitaire (Tableau XXVI). Cependant, dans la plupart des zones d'endémicité palustre, le poids du paludisme défini suivant les épisodes de fièvres en présence d'au moins un parasite résulte en des diagnostics erronés, la manifestation clinique du paludisme ayant plusieurs facettes. Plus encore, la densité parasitaire nécessaire pour causer la fièvre diffère significativement d'un individu à l'autre (Rogier *et al.*, 1996). La détermination du seuil pyrogène permet de définir à juste titre la densité parasitaire de *Plasmodium* à partir de laquelle toute fièvre peut être attribuée au paludisme.

III.3.7.1 Détermination du seuil pyrogène dans les trois districts de santé

La valeur optimale de la sensibilité et de la spécificité (point d'intersection des deux paramètres) dans les trois DS correspondait à la classe de densité parasitaire comprise entre 1601-3200 parasites/ μ l, qui correspond au seuil pyrogène dans l'ensemble des trois zones d'études (Figure 43). La fraction de fièvre attribuable au paludisme pour ce seuil pyrogène était de 33,04 % [95% CI 32.9%–42.7%], (rapport du nombre de fièvre attribuable au paludisme et du nombre total de fièvre observé, soit 15,86 /48) (Tableau XXVII). Ceci représente la proportion de morbidité fébrile qui pourrait être réduite si les infections palustres étaient éliminées chez les enfants des DS étudiés.

Tableau XXVII : Répartition des cas asymptomatiques et de fièvres dans les trois districts de santé

DP	n Asymptomatique	n fièvre	odds ratio	n fièvre attribuable au paludisme	n fièvre non attribuable au paludisme	Sensibilité	Spécificité
0	3568	695	1	0	695		
1 - 400	250	55	1,129	6,30	48,70	1	0,711
401-800	162	48	1,521	16,44	31,56	0,968	0,761
801-1600	190	43	1,162	5,99	37,01	0,886	0,793
1601-3200	165	48	1,493	15,86	32,14	0,856	0,831
3201-6400	200	45	1,155	6,043	38,96	0,777	0,864
6401-12800	174	57	1,682	23,11	33,89	0,746	0,904
12801-25600	151	63	2,142	33,59	29,41	0,630	0,938
> 25600	158	123	3,997	92,22	30,78	0,462	0,969
Total	5018	1177		199,56	977,44		

La sensibilité et la spécificité cumulée des trois DS sont représentées sur la Figure 43.

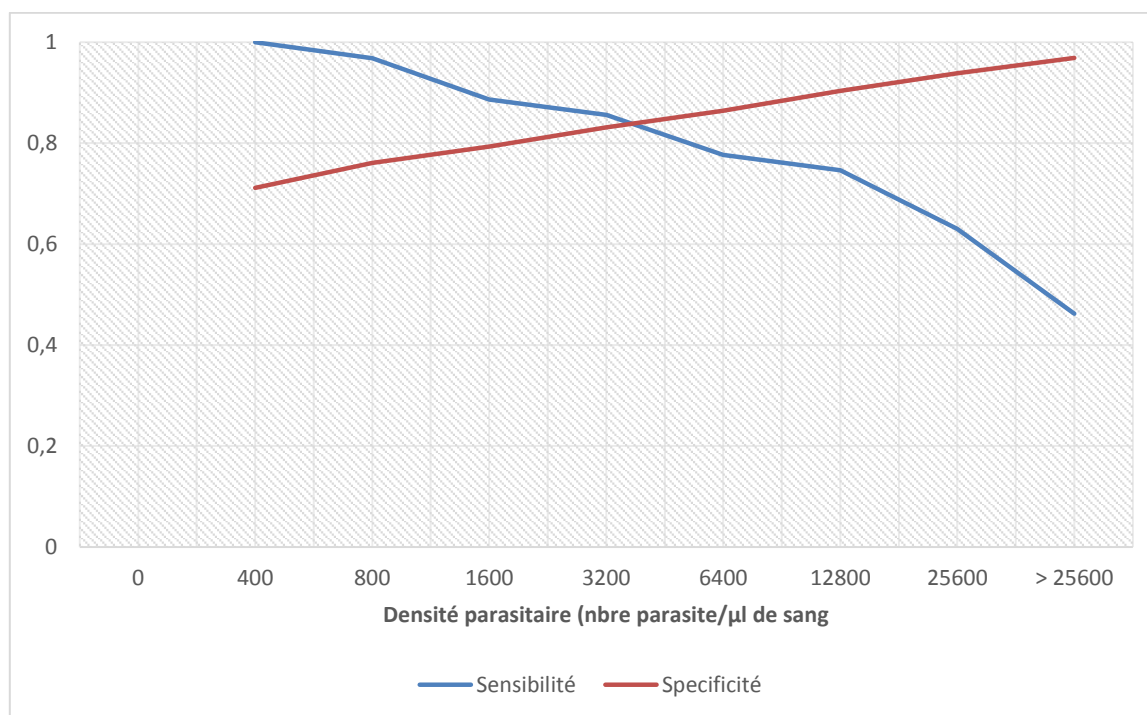


Figure 43 : Sensibilité et spécificité cumulée des trois districts de santé

III.3.7.2 Détermination du seuil pyrogène par district de santé

Le seuil pyrogène dans le DS de Garoua était de 6401 à 12800 parasites/μl (Figure 44), soit une proportion de fièvre attribuable au paludisme de 47,06 % (8,47/18) (Tableau XXVIII). Ce seuil pyrogène était de 6401 à 12800 parasites/μl à Pitoa et 401 à 800 parasites/μl à Mayo Oulo, pour une fraction de fièvre attribuable au paludisme de 14,76 % (4,28/29) et 43,32 % (2,16/5) respectivement. La variation de la proportion de fièvre attribuable au paludisme était importante d'un DS à un autre ($\chi^2 = 17,81$; ddl=2; $p=0,0001$). Ceci implique donc que la définition de la manifestation clinique du paludisme et sa prise en charge devraient être différentes d'un DS à l'autre.

Le Tableau XXVIII présente la variation de la proportion de fièvre attribuable au paludisme dans chaque DS.

Tableau XXVIII : Répartition des cas asymptomatiques et des fièvres dans les districts de santé

Districts de santé	Densité Parasitaire	n cas asymptomatique	n cas de fièvre	odds ratio	n de fièvre attribuable au paludisme	n de fièvre non attribuable au paludisme	Sensibilité	Spécificité
DS Garoua	0	1642	326	1	0	326		
	1 - 400	103	19	0,93	-1,45	20,45	1	0,75390266
	401-800	69	19	1,39	5,3	13,7	1,03	0,80119376
	801-1600	76	13	0,86	-2,09	15,09	0,93	0,8328742
	1601-3200	68	12	0,89	-1,5	13,5	0,97	0,8677686
	3201-6400	67	13	0,98	-0,3	13,3	1	0,8989899
	6401-12800	48	18	1,89	8,47	9,53	1	0,9297521
	12801-25600	56	27	2,43	15,88	11,12	0,85	0,95179063
	> 25600	49	41	4,21	31,27	9,73	0,56	0,9775023
Total	2178	488		55,58	432,42			
DS Pitoa	0	850	208	1	0	208		
	1 - 400	105	25	0,97	-0,69	25,69	1	0,54243778
	401-800	74	24	1,33	5,89	18,11	1,01	0,6094448
	801-1600	87	23	1,08	1,71	21,29	0,93	0,65666879
	1601-3200	80	34	1,74	14,42	19,58	0,91	0,7121889
	3201-6400	101	23	0,93	-1,72	24,72	0,72	0,76324186
	6401-12800	101	29	1,17	4,28	24,72	0,74	0,82769623
	12801-25600	81	28	1,41	8,18	19,82	0,68	0,89215061
	> 25600	88	65	3,02	43,47	21,53	0,58	0,94384174
Total	1567	459		75,55	383,45			
DS Mayo Oulo	0	1076	161	1	0	161		
	1 - 400	42	11	1,75	4,72	6,28	1	0,84524745
	401-800	19	5	1,76	2,16	2,84	0,88	0,87824038
	801-1600	27	7	1,73	2,96	4,04	0,83	0,89316575
	1601-3200	17	2	0,79	-0,54	2,54	0,75	0,91437549
	3201-6400	32	9	1,88	4,21	4,79	0,76	0,92772977
	6401-12800	25	10	2,67	6,26	3,74	0,66	0,95286724
	12801-25600	14	8	3,82	5,91	2,09	0,5	0,97250589
	> 25600	21	17	5,41	13,86	3,14	0,35	0,98350353
Total	1273	230		39,52	190,48			

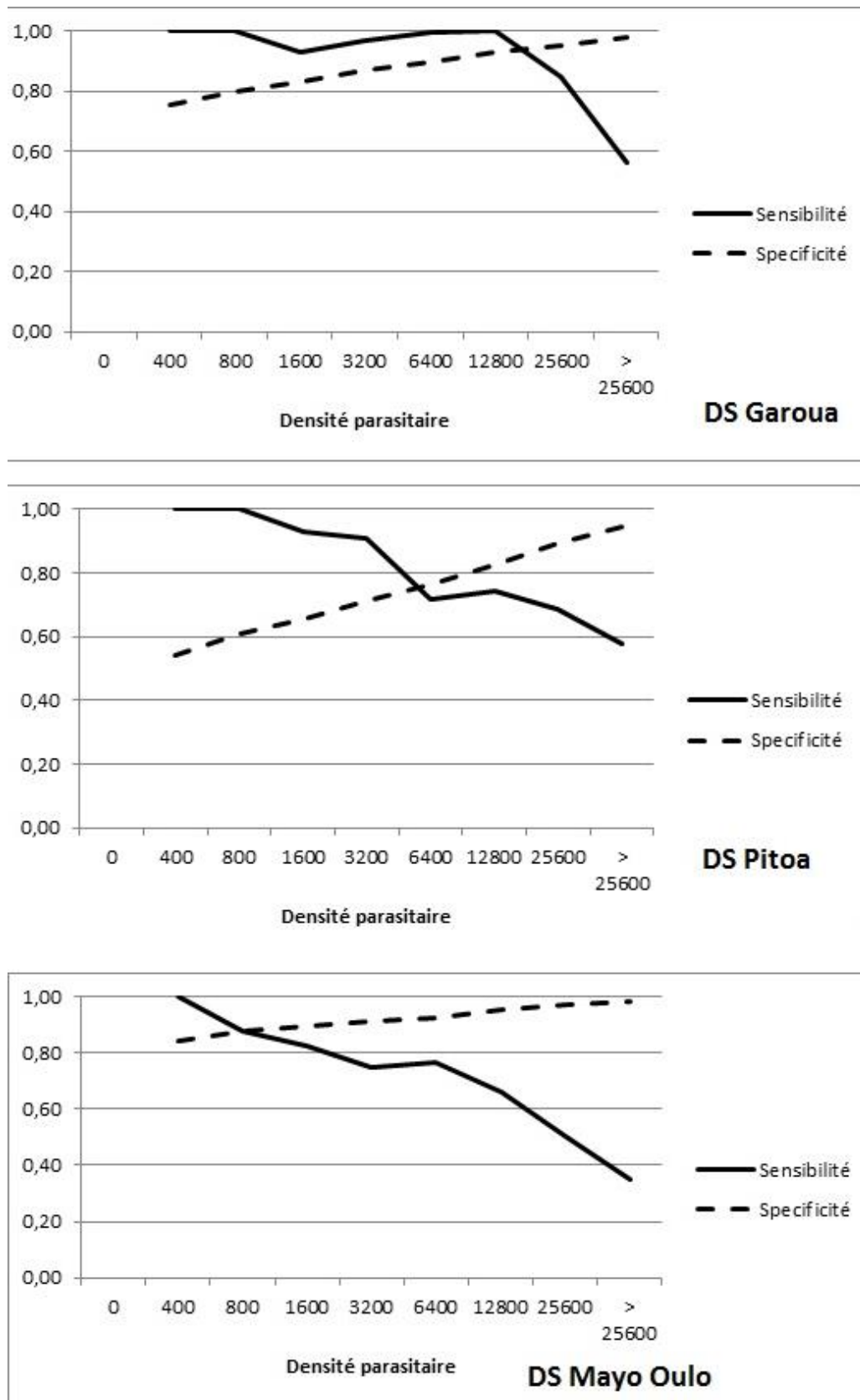


Figure 44 : Sensibilité et spécificité par district de santé

III.3.7.3 Détermination du seuil pyrogène par tranche d'âge.

Le nombre de cas de fièvre rencontré par DS étant faible, la détermination de la fraction de fièvre attribuable au paludisme suivant les tranches d'âge dans chaque district n'a pas pu être possible. Il a été déterminé plutôt la fraction attribuable en fonction des tranches d'âge dans l'ensemble des trois DS.

La Figure 45 sur la sensibilité et la spécificité a permis de déterminer le seuil pyrogène (classe de densité parasitaire correspondant au point d'intersection de la spécificité et la sensibilité) (Tableau XXIX).

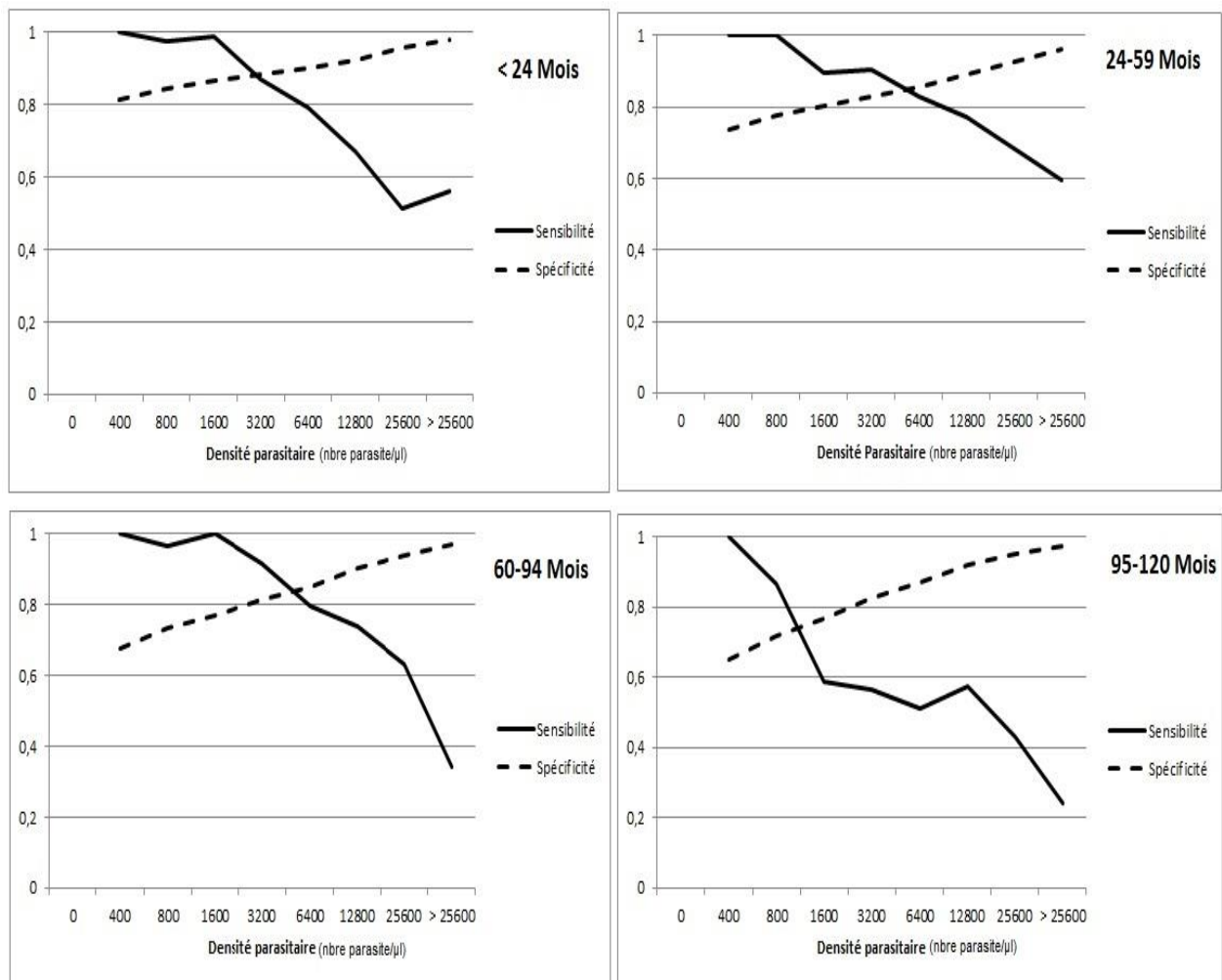


Figure 45 : Sensibilité et spécificité par tranche d'âge dans les trois districts de santé.

La fraction attribuable de fièvre liée au paludisme dans l'ensemble des trois zones d'étude a montré que celle-ci était âge-dépendant. Elle a varié suivant les tranches d'âge ($\chi^2 = 11,70$; d.d.l=3; $p=0,0085$) et diminué au fur et à mesure que l'âge des enfants augmentait (Tableau

XXIX). Ainsi, la survenue du risque de développer la fièvre comme une manifestation clinique du paludisme décroissait avec l'âge parmi les enfants exposés aux infections palustres. Ces observations corroborent les résultats obtenus dans d'autres régions endémiques (Rogier *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1998). Ainsi donc, la définition des cas de paludisme découlant de la présente étude montre la relation entre la densité parasitaire, la fièvre, l'âge des enfants.

Tableau XXIX : Seuils pyrogènes et fraction de fièvre attribuable au paludisme par district et par tranches d'âge

		seuil pyrogène (nbre parasite/ μ l)	n Fièvre	n fièvre attribuable au paludisme	Proportion de fièvre attribuable au paludisme [IC 95%]	Sensibilité	Spécificité
District de santé	Garoua	1801-25600	27	15,88	58,82% [40,32-75,13]	0,85	0,95
	Pitoa	6401-12800	29	4,28	14,77% [6,08-31,71]	0,74	0,83
	Mayo Oulo	401-800	5	2,16	43,14% [13,34-78,90]	0,88	0,88
Tranche d'âge (mois)	< 24	1601-3200	4	1,354	33,85% [7,71-75,82]	0,871	0,884
	24-59	3201-6400	18	4,813	26,74% [11,82-49,84]	0,831	0,858
	60-94	3201-6400	17	3,949	23,23% [9,37-46,95]	0,796	0,852
	95-120	801-1600	9	0,979	10,87% [1,92-43,24]	0,588	0,768

III.3.8 Possession et utilisation des moustiquaires dans la population

III.3.8.1 Possession et utilisation de la moustiquaire

Sur les 1.409 ménages enquêtés pendant les deux années de l'étude (731 ménages en 2013 et 678 en 2014), le taux de possession en moustiquaires était relativement élevé (Tableau XXX). En effet, un pourcentage de 70,40% de ménages disposait d'au moins une moustiquaire. Ce résultat est proche des 75,3% enregistré dans la Région du Nord en 2013 (INS, 2013). Sur le plan National, cette possession était de 66% en 2013 et 33 % en 2011 (INS & ICF, 2012; INS, 2013). Cette nette amélioration du taux de possession entre 2011 et 2013 s'explique par la campagne de distribution de masse gratuite de MILDA menée entre Septembre 2011 et Janvier 2012 par le Gouvernement du Cameroun et ses partenaires. Ce taux de possession a été plus important à Garoua, soit 71,80%, suivit de Mayo Oulo avec 70,70% et 67,80% à Pitoa. Toutefois, la différence n'était pas significative ($\text{Chi}_2 = 0,12$; $p = 0,94$; $\text{ddl} = 2$). Entre 2013 et 2014, l'on a observé une baisse du taux de possession, passant de 75,51 % à 65,3% ($\text{Chi}_2 = 0,68$; $p = 0,41$; $\text{ddl} = 1$).

Tableau XXX : Possession des moustiquaires dans les ménages enquêtés

Année	Possession Moustiquaire	Garoua	Pitoea	Mayo Oulo	TOTAL
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
2013	Oui	284 (70,5)	172 (74,8)	93 (94,9)	549 (75,1)
	Non	119 (29,5)	58 (25,2)	5 (5,1)	182 (24,9)
	TOTAL	403 (100)	230 (100)	98 (100)	731 (100)
2014	Oui	254 (73,4)	118 (59,6)	71 (53)	443 (65,3)
	Non	92 (26,6)	80 (40,4)	63 (47)	235 (34,7)
	TOTAL	346 (100)	198 (100)	134 (100)	678 (100)
Total	Oui	538 (71,8)	290 (67,8)	164 (70,7)	992 (70,4)
	Non	211 (28,2)	138 (32,2)	68 (29,3)	417 (29,6)
	TOTAL	749 (100)	428 (100)	232 (100)	1409 (100)

Le taux de couverture universelle en moustiquaire de tout type était de 18,10% contre 13,9% en moustiquaires imprégnées (Tableau XXXI) et variait très peu sur les deux années dans les DS ($\chi^2=3,39$; ddl=2, $p=0,18$).

Ce taux de couverture en moustiquaire dans les ménages a chuté à 13,9% pour celles imprégnées d'insecticides. En fonction des DS, il a été de 16,2% à Garoua, 10,40 à Pitoea et de 12,80% à Mayo Oulo ($\chi^2=1,29$; ddl=2, $p=0,52$). Cette couverture universelle était très faible comparée au 39,6% enregistré dans la Région du Nord en 2013 (INS, 2013). Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que notre étude ne prenait en compte que trois DS alors que la région du Nord en compte 13. De plus, l'étude ne prenait en compte qu'une mince tranche de la population (enfant d'âge compris entre 6 et 120 mois), contrairement aux Enquêtes Démographiques et de Santé (EDS) combinées à l'Enquête par Grappe à Indicateurs Multiples (MICS) de 2011 et l'Enquête post campagne (EPC) sur l'utilisation des MILDA de 2013 qui englobaient toute la population. Bien que bon nombre de ménages possèdent la moustiquaire, cet outil de protection reste insuffisant pour une couverture universelle.

L'utilisation de la moustiquaire par les enfants était globalement de 52,02 %. Suivant les DS, le taux d'utilisation était plus important à Garoua soit 58,48%, 47,69% et 46,34% à Pitoea et Mayo Oulo respectivement (Tableau XXXII). Ce résultat est de loin supérieur à 32,8% et 41,1% d'utilisation de MILDA chez les enfants et ceux de moins de 5 ans respectivement enregistrés dans la Région du Nord en 2013 (INS, 2013).

Tableau XXXI : Niveau de couverture universelle en moustiquaires dans les ménages

Type de moustiquaire	Année		Garoua	Pitoea	Mayo Oulo	TOTAL
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Moustiquaire de n'importe quel type	2013	Oui	97 (24,1)	30 (13)	16 (16,3)	143 (19,6)
		Non	306 (75,9)	200 (87)	82 (83,7)	588 (80,4)
		TOTAL	403 (100)	230 (100)	98 (100)	731 (100)
	2014	Oui	71 (20,5)	22 (11,1)	19 (14,2)	112 (16,5)
		Non	275 (79,5)	176 (88,9)	115 (85,8)	566 (83,5)
		TOTAL	346 (100)	198 (100)	134 (100)	678 (100)
	Total	Oui	168 (22,4)	52 (12,1)	35 (15,1)	255 (18,1)
		Non	581 (77,6)	376 (87,9)	197 (84,9)	1154 (81,9)
		TOTAL	749 (100)	428 (100)	232 (100)	1409 (100)
Moustiquaire imprégnée d'insecticide	2013	Oui	48 (14,5)	21 (11,4)	14 (14)	83 (13,5)
		Non	283 (85,5)	164 (88,6)	86 (86)	533 (86,5)
		TOTAL	331 (100)	185 (100)	100 (100)	616 (100)
	2014	Oui	62 (17,9)	19 (9,6)	16 (11,9)	97 (14,3)
		Non	284 (82,1)	179 (90,4)	118 (88,1)	581 (85,7)
		TOTAL	346 (100)	198 (100)	134 (100)	678 (100)
	Total	Oui	110 (16,2)	40 (10,4)	30 (12,8)	180 (13,9)
		Non	567 (83,8)	343 (89,6)	204 (87,2)	1114 (86,1)
		TOTAL	677 (100)	383 (100)	234 (100)	1294 (100)

Tableau XXXII : Utilisation de la moustiquaire par les enfants dans les ménages enquêtés

DS	Avez-vous dormi sous une moustiquaire la nuit dernière ?	2013	2014	Total
		n(%)	n(%)	n(%)
Garoua	Non	633 (45,70)	486 (37,10)	1119 (41,52)
	Oui	752 (54,30)	824 (62,90)	1576 (58,48)
	TOTAL	1385 (100)	1310	2695 (100)
Pitoea	Non	541 (52,47)	522 (52,15)	1063 (52,31)
	Oui	490 (47,53)	479 (47,85)	969 (47,69)
	TOTAL	1031 (100)	1001 (100)	2032 (100)
Mayo Oulo	Non	379 (50,07)	435 (57,24)	814 (53,66)
	Oui	378 (49,93)	325 (42,76)	703 (46,34)
	TOTAL	757 (100)	760 (100)	1517 (100)
Total	Non	1553 (48,94)	1443 (46,99)	2996 (47,98)
	Oui	1620 (51,06)	1628 (53,01)	3248 (52,02)
	TOTAL	3173 (100)	3071 (100)	6244 (100)

III.3.8.2 Infection palustre et utilisation de la moustiquaire

De manière globale, durant 2013 et 2014, l'utilisation de la moustiquaire par les enfants ne semblait pas influencer l'infection palustre. En 2013, l'on n'a observé un OR (odds ratio) de 1,13 [0,97-1,31] et de 1,02 [0,88-1,19] en 2014. Toutefois, un effet protecteur de la moustiquaire contre les infections palustres a été observé à Mayo Oulo en 2013 (OR=0,596 [0,40-0,88]) et en 2014 (OR=0,651 [0,45-0,94]) (Tableau XXXIII). Cependant, le rôle de l'utilisation des moustiquaires a été démontré dans la réduction des risques cliniques du paludisme, le paludisme sévère et la mortalité chez les individus qui les utilisent (Killeen *et al.*, 2007, Protopopoff et al., 2018). C'est ainsi que des réductions de la mortalité infantile de l'ordre de 25% ont été observées au sein des populations utilisatrices des MILDA (Lengeler, 2004). Dans la présente étude, bien que le taux de possession de MILDA soit élevé au sein des ménages, ainsi que le taux d'utilisation par les enfants dans la population d'étude, cet outil phare de la prévention contre le paludisme semble ne pas impacter sur la prévalence palustre. D'une part, la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthrinoïdes pourrait être responsable de cette absence de l'impact de la MILDA ou l'efficacité réduite de celle-ci. En effet, de récente étude ont montré que le MILDA classique impactaient moins la morbidité palustre comparé à celle avec PBO (Protopopoff et al., 2018). D'autre part, cela pourrait s'expliquer par la couverture universelle relativement faible de 18,6%, alors que l'objectif fixé par le Cameroun en 2011 était de 32%. Il semblerait donc que les ménages ne possèdent pas suffisamment de MILDA pour protéger toute la famille en générale et les enfants en particulier. De plus, l'utilisation des MILDA est efficace dans la réduction de la transmission du paludisme en créant une barrière physique homme-vecteur. Il cible donc uniquement les vecteurs endophiles-endophages, ceux exophiles-exophages restant hors de portée. Ces vecteurs qui de par leur comportement échappent à l'action des MILDA restent très actifs dans la transmission résiduelle du paludisme, même en cas de large utilisation de cet outil.

Tableau XXXIII : Résultats de la GE en fonction de l'utilisation de la moustiquaire la nuit précédant l'enquête

DS	Avez-vous dormi sous une moustiquaire la nuit dernière ?	Résultat de la GE									
		2013				2014					
		Positif	Négatif	TOTAL	OR [IC 95%]	pvalue	Positif	Négatif	TOTAL	OR [IC 95%]	pvalue
n(%)	n(%)	n(%)			n(%)	n(%)	n(%)				
Garoua	Non	212 (33,5)	421(66,5)	633(100)			121 (24,9)	365 (75,1)	486 (100)		
	Oui	181(24,1)	571(75,9)	752(100)	1,589 [1,25-2,0]	0,00007	193 (23,4)	631 (76,6)	824 (100)	1,084 [0,84-1,41]	0,29491
	TOTAL	393 (28,4)	992 (71,6)	1385 (100)			314 (24)	996 (76)	1310 (100)		
Pitoea	Non	247 (45,7)	294 (54,3)	541 (100)			259 (49,6)	263 (50,4)	522 (100)		
	Oui	232 (47,3)	258 (52,7)	490 (100)	0,934 [0,73-1,19]	0,31523	234 (48,9)	245 (51,1)	479 (100)	1,031 [0,81-1,32]	0,42914
	TOTAL	479 (46,5)	552 (53,5)	1031 (100)			493 (49,3)	508 (50,7)	1001 (100)		
Mayo Oulo	Non	48 (12,7)	331 (87,3)	379 (100)			70 (16,1)	365 (83,9)	435 (100)		
	Oui	74 (19,6)	304 (80,4)	378 (100)	0,596 [0,40-0,88]	0,00633	74 (22,8)	251 (77,2)	325 (100)	0,651 [0,45-0,94]	0,01312
	TOTAL	122 (16,1)	635 (83,9)	757 (100)			144 (18,9)	616 (81,1)	760 (100)		
Total	Non	507 (32,6)	1046 (67,4)	1553 (100)			450 (31,2)	993 (68,8)	1443 (100)		
	Oui	487 (30,1)	1133 (69,9)	1620 (100)			501 (30,8)	1127 (69,2)	1628 (100)		
	TOTAL	994 (31,3)	2179 (68,7)	3173 (100)	1,13 [0,97-1,31]	0,0629	951 (31)	2120 (69)	3071 (100)	1,02 [0,88-1,19]	0,4170

n= effectif ; %= pourcentage

III.3.9 Effet de la résistance à la deltaméthrine sur la transmission et la prévalence du paludisme

Une corrélation négative de l'effet de la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine sur le taux d'infection a été observée dans le DS de Garoua ($\rho = -0,068$), de Pitoa ($\rho = -0,112$) et de Mayo Oulo ($\rho = -0,324$). Toutefois, cette corrélation n'était significative dans aucun des districts de santé ($p > 0,05$). Quel que soit le district de santé considéré, une augmentation de la résistance entraînait une augmentation du taux d'infection chez les anophèles vecteurs du paludisme (Figure 46). Quant à l'effet de la résistance sur l'indice gamétocytaire, une corrélation positive a été observée dans le DS de Pitoa ($\rho = 0,14361$) et cette corrélation était négative à Mayo Oulo ($\rho = -0,667$) et à Garoua ($\rho = -0,108$). Ainsi, dans les districts de santé de Garoua et de Mayo Oulo, il était plus probable de rencontrer des enfants avec de forts indices gamétocytaires dans les villages où la résistance à deltaméthrine était élevée (Figure 46).

La menace que constitue la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides est réelle (Ranson *et al.*, 2011; WHO, 2012) et des études antérieures montrent que cette influence entraîne une augmentation de la compétence vectorielle d'*An. gambiae* s.l. En effet, la résistance aux insecticides dans une population vectrice est supposée augmenter la transmission de la maladie, bien que l'effet de celle-ci sur la transmission de la maladie dépende des individus constitutifs de la population vectrice (McCarroll & Hemingway, 2002). C'est ainsi que la capacité des vecteurs à ingérer les parasites, de promouvoir leur maturation jusqu'au stade infectieux et la longévité du vecteur jusqu'à la maturation du parasite peut varier selon les espèces anophéliennes, probablement en raison de la pression insecticide (McCarroll & Hemingway, 2002). Ainsi, une résistance par modification des sites cibles augmenterait chez les vecteurs la probabilité d'infection à *P. falciparum* suite à l'ingestion de sang contenant des gamétocytes, en l'absence d'insecticide (Alout *et al.*, 2014), suggérant une augmentation de la transmission parasitaire dans les populations résistantes. Par contre, une exposition prolongée aux insecticides des souches résistantes protégerait les vecteurs d'une infection lors de l'ingestion d'un sang infecté. En effet, l'exposition aux insecticides pourrait avoir un effet indirect par des modifications physiologiques chez le moustique. Les insecticides modulent l'expression de plusieurs gènes, en particulier ceux liés à la détoxification des xénobiotiques, le métabolisme redox mitochondriale, et l'augmentation de l'expression du cytochrome P450 connu pour son amplification du stress oxydatif (Morgan, 1997).

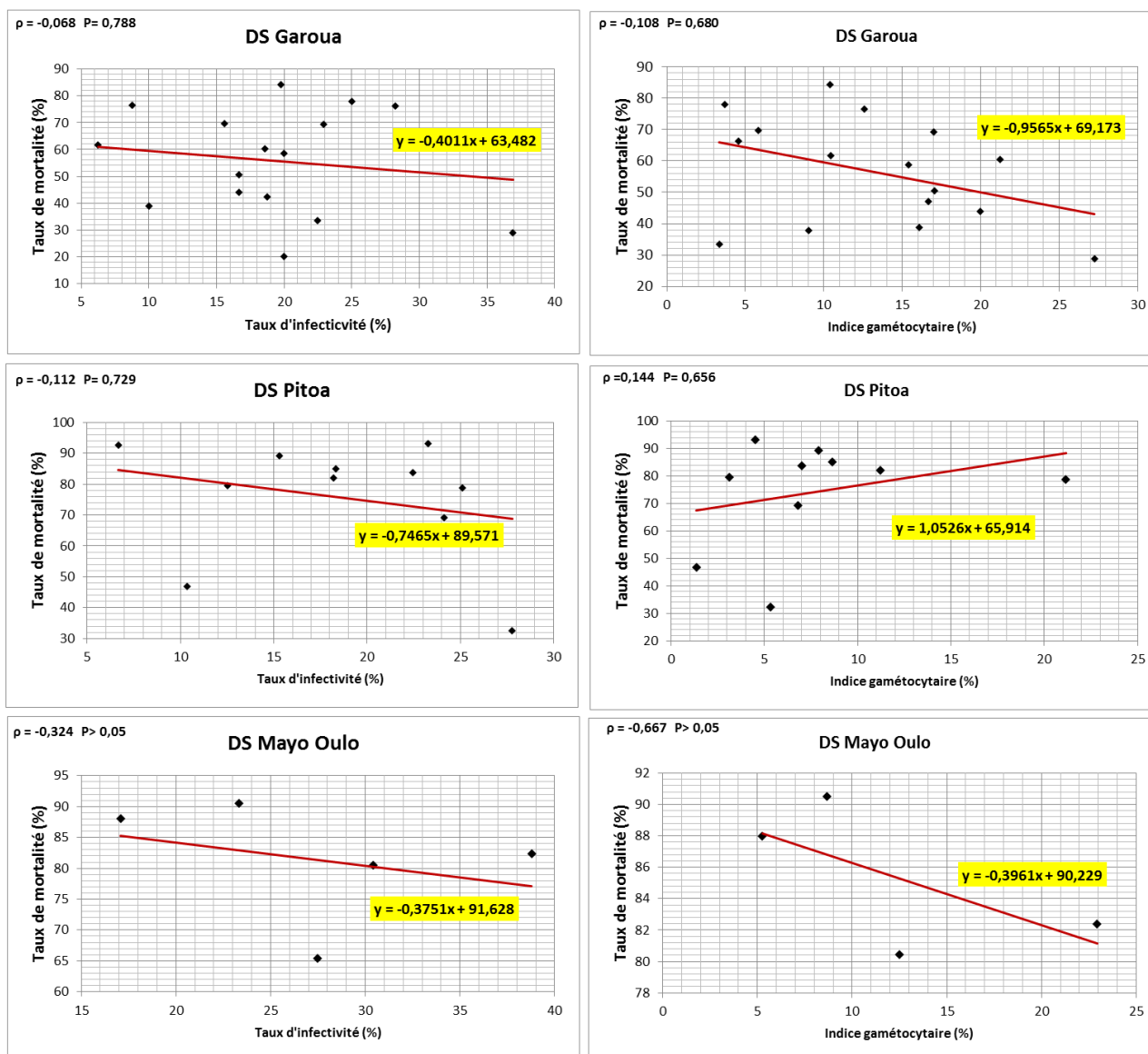
Ces évènements interfèreraient avec le développement du parasite du fait du stress oxydatif induit par le repas de sang, et l'ingestion du *Plasmodium* par le vecteur a été révélée comme jouant un rôle crucial dans le contrôle des infections (Kumar *et al.*, 2003). De plus, les mutations de la résistance aux insecticides augmenteraient la compétence vectorielle d'*An. gambiae* s.l pour *P. falciparum*, tandis que l'exposition aux insecticides aurait l'effet inverse sur les vecteurs porteurs de ces mutations (Alout *et al.*, 2014).

Cependant, l'effet minime ($p > 0.05$) de la résistance sur l'épidémiologie du paludisme dans les trois DS est sujet à plusieurs questionnements, compte tenu de l'échec de certains pays dans le contrôle des vecteurs du paludisme après le développement de la résistance aux insecticides utilisés dans les aspersions intra domiciliaires (N'Guessan *et al.*, 2007). De plus, des études ont révélé des moustiques résistants qui survivaient au contact des MILDA (Ochomo *et al.*, 2013; Etang *et al.*, 2016b); Dès lors, on s'attendrait à ce que les zones avec de tels moustiques aient une incidence palustre plus élevée, les moustiques vivant plus longtemps et donc en mesure de propager le *Plasmodium*. Plusieurs facteurs pourraient expliquer la corrélation non significative entre la résistance aux insecticides et l'épidémiologie du paludisme. Le premier est que les MILDA servent de barrière physique contre les vecteurs, limitant ainsi les contacts entre les humains et les vecteurs. Si ces MILDA sont en bon état et sont utilisées de manière correcte et régulière, elles réduisent les risques de piqûres de moustiques et donc de transmission du *Plasmodium* (Eisele & Steketee, 2011). Une autre explication serait que, le test de sensibilité en tube de l'OMS n'indique pas quel niveau de résistance aux insecticides devrait entraîner une défaillance du contrôle des vecteurs, ce qui constitue une faiblesse majeure de l'analyse (Bagi *et al.*, 2015). Par conséquent, même si une résistance aux insecticides est observée, les populations de moustiques peuvent encore être sensibles aux effets toxiques des doses chimiques utilisées sur les MILDA. Cela souligne la nécessité de plus de méthodes quantitatives pour la surveillance de la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides (Bagi *et al.*, 2015; Donnelly *et al.*, 2016). De plus, une étude sur les moustiques résistants à la deltaméthrine a montré que les doses sous létales de pyréthrinoïdes pouvaient entraver le développement du parasite (Kristan *et al.*, 2016). Bien que ces moustiques ne succombent pas à l'exposition aux insecticides, leur capacité à transmettre le parasite était réduite et, par conséquent, l'augmentation de la résistance aux insecticides ne provoque pas directement une augmentation majeure de l'incidence de l'infection par le *Plasmodium*. Cependant, des essais randomisés menés en dans un village Tanzanien où les vecteurs étaient résistants aux pyréthrinoïdes ont montré que les MILDA avec PBO étaient plus efficaces que

les MILDA classiques contre les infections palustres et la transmission du paludisme chez les enfants de 6 mois à 14 ans, mettant ainsi en exergue l'effet négatif de la résistance des vecteurs aux pyréthrinoïdes sur l'utilisation et l'efficacité des moustiquaires standard (Protopopoff et al., 2018).

Ainsi, nos résultats doivent être interprétés avec prudence, tant l'étude comportait quelques faiblesses. Ces faiblesses qui auraient pu affecter les résultats sont :

- La fluctuation du niveau de résistance d'une année à l'autre.
- Le fait que le test biologique en tube de l'OMS ne renseigne pas tellement sur l'intensité de la résistance aux insecticides.
- La non détermination des mécanismes de résistance mis en jeu par les vecteurs
- Le non implication dans l'analyse d'autres populations vectrices comme *An. funestus* qui est fortement impliqué dans la transmission du paludisme au Cameroun (Cohuet *et al.*, 2004). Ceci est en partie dû à la difficulté de les élever en laboratoire et de les trouver dans des habitats larvaires.



A gauche, l'effet de la résistance à la deltaméthrine sur la transmission du paludisme. A droite, effet de la résistance sur la morbidité palustre. Rho (ρ) coefficient de corrélation de Spearman

Figure 46 : Analyse de l'effet de la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine et l'épidémiologie du paludisme.

III.3.10 Conclusion partielle

La définition des cas de paludisme découlant de la présente étude montrait la relation entre la densité parasitaire, la fièvre, l'âge et le niveau de transmission qui varie suivant les DS. Cette étude confirme que l'infection palustre reste l'une de cause majeure de fiébrilité chez les enfants, cependant d'autres causes de fièvres sont à prendre en compte dans la prise en charge des enfants. La détermination du seuil pyrogène dans les différents districts pourrait permettre

d'améliorer la prise en charge de cas de paludisme chez les enfants. Les présents résultats suggèrent également que dans le Nord du Cameroun, il y aurait un changement notable du groupe à risque palustre, passant des enfants de moins de cinq ans aux enfants plus âgés. La répartition des cas se déplaçant vers les enfants plus âgés. Une réévaluation de la lutte ciblant les groupes les plus à risque palustre serait à envisager afin de s'assurer effectivement que ces personnes à risque sont suffisamment protégées. La possession de la moustiquaire au sein des ménages a été forte, mais reste insuffisante pour protéger tous les membres des ménages. L'effet de la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine sur les paramètres entomologiques (Taux d'infection) et les paramètres parasitologiques (l'indice gamétocytaire) a été minime dans les trois DS. Dans ce contexte de la résistance d'*An. gambiae* s.l., à la deltaméthrine, les MILDA pourraient ne plus tuer aussi efficacement les moustiques. Cette résistance des vecteurs nécessite un suivi permanent afin de mesurer son niveau et sa propagation au sein des populations vectrices, les mécanismes impliqués et ainsi réorienter la politique de prévention contre le paludisme.

**CONCLUSION GENERALE ET
PERSPECTIVES**

Conclusion général

Les résultats majeurs relatifs au suivi de l'effet de la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05% sur la transmission du paludisme dans trois DS de Nord Cameroun sont rassemblés dans le présent mémoire. Il ressort que

1. La résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05% a été élevée dans la plupart des villages des trois DS, avec des taux de mortalité inférieures à 98%. Globalement, la résistance était plus prononcée dans le DS de Garoua.

2. Le suivi transversal mené sur quatre ans a permis de mettre en évidence une diversité très prononcée de la faune anophélienne dans les trois DS. Quel que soit le DS, la nuisance culicidienne était majoritairement assurée par l'espèce *Culex* dont la densité était plus importante en zone urbaine. La diversité anophélienne était plus importante dans le district de Mayo Oulo. *Anopheles gambiae* s.l. était le vecteur majeur du paludisme et *An. arabiensis* en était l'espèce majoritaire de ce complexe. *Anopheles funestus* et *An. pharoensis* jouaient un rôle secondaire dans la transmission du paludisme. *Anopheles rufipes* généralement considéré comme zoophile a été rencontré fortement anthropophile et infecté de plasmodies, faisant de cette espèce un nouvel vecteur du paludisme d'importance locale au Cameroun.

3. Le paludisme dans la Région du Nord-Cameroun en saison pluvieuse sévissait à l'état mésoendémique avec un indice plasmodique de 31,15%. La prévalence de cette parasitose était plus élevée dans le DS de Pitoa où l'écosystème est influencé par les aménagements hydro-agricoles. La pratique de la riziculture irriguée semble donc avoir un effet sur l'endémicité palustre dans le sens d'une aggravation. *P. falciparum* était l'espèce plasmodiale prépondérante, suivie de *P. malariae* et de *P. ovale*. Le cycle de transmission était potentiellement entretenu dans les trois DS par une circulation dense des formes sexuées du parasite. Dans l'ensemble, l'Indice Plasmodique variait avec l'âge, mais pas de façon significative. La prévalence de la fièvre chez les enfants était importante. Cependant, parmi les cas de fièvres enregistrées, presque la moitié était associée à une infection de *Plasmodium*.

4. Les analyses du test de corrélation de Spearman ont révélé une corrélation entre la résistance d'*An. gambiae* s.l. à la deltaméthrine 0,05%, et le taux d'infection d'une part et d'autre part avec l'indice gamétocytaire chez les enfants. Cependant cette corrélation n'était pas significative. Ainsi, en raison de la faible sensibilité d'*An. gambiae* s.l., à la deltaméthrine, les MILDA pourraient ne pas tuer ces

moustiques aussi efficacement. Cette résistance des vecteurs nécessite un suivi permanent afin de mesurer son niveau et sa propagation au sein des populations vectrices et ainsi adopter une gestion adéquate de celle-ci.

Perspectives

Après la réussite de la campagne de masse de 2011, les ressources mobilisées par le Fonds Mondial et d'autres bailleurs ont permis de maintenir et d'étendre la couverture en MILDA au Cameroun. Une nouvelle distribution a été organisée en 2016 afin de remplacer les moustiquaires arrivées en fin de vie et d'améliorer le taux de couverture. Dans ce contexte d'intensification de l'usage des MILDA au Cameroun, il est indispensable que le niveau de résistance des populations d'*An. gambiae* s.l. et d'autres vecteurs majeurs (*An. funestus*) soit régulièrement évalué. La priorité étant donnée dans la présente étude au niveau de résistance phénotypique, il importe non seulement d'étendre ces études sur toute l'étendue du territoire, mais également de déterminer les mécanismes de résistances impliqués. Dans nos travaux à venir, nous envisageons :

- Etendre les études de la sensibilité aux autres vecteurs du paludisme (*An. funestus*, *An. rufipes*...) et aux autres classes d'insecticides (Carbamates, organophosphorés...).
- Investiguer sur les mécanismes de résistance mis en jeu par les vecteurs du paludisme.
- Evaluer l'efficacité des MILDA dans la prévention contre les infections palustres sur l'étendue du territoire
- Investiguer sur le rôle d'*An. rufipes* dans la transmission du paludisme dans d'autres facies épidémiologiques.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche de capture sur volontaires humains

Localité :..... Date de Capture :..... Mode de Capture :.....
 Poste :..... Lieu de Capture : Distance du Centre de santé :
 Coordonnées GPS :.....

N°	Tranche Horaire	Espèces	Pare	Nullipare	Glandes Salivaires		Observations
					Positif	Négatif	
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							
33							
34							
35							

Annexe 2 : Matériel et réactifs pour l'extraction de L'ADN

1. Matériel :

- Microbroyeur (moteur à piles + piston Pellet)
- Pignons en polypropylène pour tubes de 1,5 ml
- bain-marie
- centrifugeuse
- speed-vac
- Micro-pipettes à volume réglable
- Cônes stériles jetables
- Tubes Eppendorf de 1,5 ml

2. Réactifs :

- **CTAB à 2%** : préparer comme ci-dessous :

Réactifs	Volume	Concentration finale
1 M Tris HCl pH 8.0	100 ml	100 mM
0.5 M EDTA	20 ml	10 mM
NaCl	81.8 g	1.4 M
CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide)	20 g	2 %
Eau distillée	QSP 1 L	

Mélanger sous agitateur magnétique.

Conserver à TA.

- Chloroforme
- Isopropanol
- Ethanol 70%

Annexe 3a : Matériel et réactifs utilisés pour L'ELISA-CSP

1. Matériel :

- Tubes Eppendorf de 1,5 ml
- Microbroyeur (moteur à piles + piston Pellet)
- Pions en polypropylène pour tubes de 1,5 ml
- Plaques de microtitration de 96 puits (Nunc®)
- Micro-pipettes à volume réglable
- Cônes stériles jetables
- Tubes à essais
- Verrerie
- Spectrophotomètre (Labsystems Multiskan EX)

2. Réactifs :

- **Solution de PBS (Phosphate Buffered Saline) :**

Eau distillée	1 L
PBS en poudre	9,7 g
- **PBS/Tween 20**

Solution de PBS	1 L
Tween 20	500 µl
- **BB (Blocking Buffer, pour 1 litre)**

PBS	1 L
Caséine	5 g
Thiomérosal	0,1 g
Phénol rouge	0,04 g
Albumine bovine	10 g

Agiter pendant 2 heures.
- **Acide sulfurique 4N.**
- **Tampon citrate**

Eau bidistillée	200 ml
Hydroxyde de Sodium	4,48 g

Faire dissoudre par agitation puis :

Acide citrique	11,77 g
----------------	---------

Ajouter 400 ml d'eau bidistillée ; ajuster le PH à 4 avec de l'acide chlorhydrique 1N.
Compléter à 1 l avec de l'eau bidistillée.
- **Substrat de la peroxydase**

N,N-diméthylformamide	250 µl
Ortho-toluidine	5 mg
Tampon citrate	30 ml
Eau oxygénée à 10%	12 µl
- **NP 40 (Nonidet P 40)**

BB	2 ml
NP 40	25 µl
- **Anticorps monoclonaux de capture (ACm) et conjugués à la peroxydase :**
Reconstituer avec le milieu suivant : 1 volume d'eau + 1 volume de glycérol ;
- Témoin positif *Plasmodium falciparum*

Annexe 3b : Fiche de distribution des broyats de moustiques

Date :

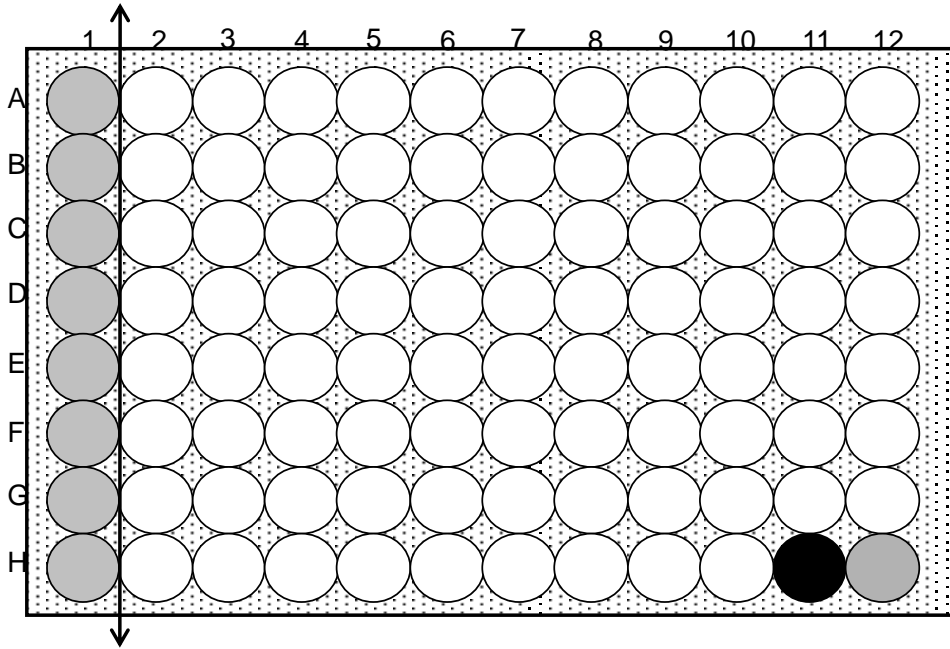
Opérateur :




N° de plaque :

Saisie dans la base et contrôlé le :

Origine des moustiques :

Date de capture :



-  **Témoin positif *Plasmodium falciparum***
-  **Témoin négatif (PBS)**
-  **Broyat des moustiques à tester (un moustique par puits)**

Moustiques broyés le.....par.....

Remarques :

Résultats : Numéros des moustiques positifs avec DO correspondant

Annexe 3c : Matériel et réactifs pour l'ELISA repas de sang

1. Matériel

- Tubes Eppendorf de 1,5 ml
- Microbroyeur (moteur à piles + piston Pellet)
- Pylons en polypropylène pour tubes de 1,5 ml
- Plaques de microtitration de 96 puits (Nunc®)
- Micro-pipettes à volume réglable
- Cônes stériles jetables
- Tubes à essais
- Verrerie
- Spectrophotomètre (Labsystems Multiskan EX)

2. Réactifs

- Solution de PBS (Phosphate Buffered Saline) :

Eau distillée	1 l
PBS en poudre	9,7 g
- **Tampon repas de sang**

NaOH 0,1N	100 ml
Caséine	5 g

Faire bouillir jusqu'à dissolution totale, puis:

PBS	900 ml
Tween 20	250 µl
Thiomérosal	0,1 g
Phénol rouge	0,02 g

Agiter pendant 2 heures
- **Tampon citrate**

200 ml d'eau bidistillée	
Hydroxyde de Sodium	4,48 g

Faire dissoudre par agitation puis :

Acide citrique	11,77 g
----------------	---------

Ajouter 400 ml d'eau bidistillée ; ajuster le PH à 4 avec de l'acide chlorhydrique 1N.
Compléter à 1 l avec de l'eau bidistillée.
- **PBS/Tween 20**

Solution de PBS	1 l
Tween 20	500 µl

Agiter pendant 2 heures.
- **Substrat de la peroxydase**

N,N-diméthylformamide	250 µl
Ortho-toluidine	5 mg
Tampon citrate	30 ml
Eau oxygénée à 10%	12 µl
- **Acide sulfurique 4N.**
- **Anticorps spécifiques d'espèces marqués à la peroxydase (à reconstituer selon la notice).**
- **témoins positifs** : sang des différentes espèces à tester dilué au 1/100 en moyenne ou sérum d'espèce dans 1 ml de PBS aux concentrations suivantes : homme (1/100) ; bœuf (1/100) ; mouton ou chèvre (1/30) ; poulet (1/200) ; porc (1/100) ; cheval (1/100) ; porc (1/100), chien (1/100),

Annexe 4 : Fiche de collecte de l'enquête des ménages et de données parasitologiques

**ENQUETE PALUDOMETRIQUE TRANSVERSALE DU PROJET
« IMPACT OF INSECTICIDE RESISTANCE ON THE
EFFECTIVENESS OF LLINS IN THE NORTH OF CAMEROON »**

Les informations collectées au cours de cette enquête sont strictement confidentielles au terme de la loi N° 91/023 qui stipule en son article 5 que « les renseignements individuels d'ordre économique ou financier figurant sur tout questionnaire d'enquête statistique ne peuvent en aucun cas être utilisés à des fins de contrôle ou de répression économique ».

QUESTIONNAIRE MENAGE

NUMERO SEQUENTIEL DU MENAGE (ne pas remplir) :

Avez-vous utilisé des questionnaires ménages supplémentaires dans le ménage actuel (encercler)? Oui / Non
Si oui, le présent questionnaire est le numéro : /___/ sur /___/ questionnaires ménages.

District de santé : _____
Aire de santé : _____
Village (quartier/village) : _____

RENSEIGNEMENTS SUR LA COLLECTE

ENQUETEUR : _____ CONTROLEUR : _____ SUPERVISEUR : _____ DATE DE L'ENQUETE : _____ DATE DE FIN D'ENQUETE : _____	_ _ _ _ _ _ _ _ _ _
RESULTAT DE LA COLLECTE : _ _ 1 = Enquête complète (Toutes les sections renseignées) 2 = Enquête incomplète (Une ou plusieurs sections non renseignées) 3 = Questionnaire entièrement non rempli	
RAISON DE NON-REPONSE (Si non réponse) 1=Refus 2=Absence 3=Incapacité	_
APPRECIATION DE LA QUALITE DE L'ENQUETE 1=Très bonne 2=Bonne 3=Moyenne 4=Mauvaise 5=Très Mauvaise	_

CONSENTEMENT APRÈS INFORMATION

Bonjour ! Je m'appelle _____, je suis infirmier et je travaille au centre de santé de _____ (indiquer le nom du centre de santé/Hôpital dans lequel vous travaillez). Nous effectuons en ce moment, une étude dans ce village concernant divers problèmes liés au paludisme.

Comme vous le savez, le paludisme est un grand problème de santé dans notre pays. Il tue chaque année des milliers de personnes, surtout les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes. Pour l'instant, nous voulons avoir des informations sur la manière dont le paludisme sévit dans le nord du Cameroun et plus particulièrement dans ce village. Ces informations nous aideront pour comprendre comment mieux lutter contre le paludisme dans le nord Cameroun.

Dans le cadre de cette étude, nous travaillons uniquement avec les enfants âgés de 6 mois à 10 ans. Une fois que vous accepteriez la participation de votre enfant à cette étude, nous vous poserons quelques questions sur les résidents de votre ménage, la possession et l'utilisation des moustiquaires et la santé de l'enfant puis nous examinerons l'enfant. Nous prélèverons également une goutte de sang pour examiner au laboratoire à la recherche de l'infection du paludisme et nous effectuerons un test de diagnostic rapide du paludisme. Si l'enfant est positif au test de diagnostic rapide du paludisme, nous le traiterons immédiatement. L'enfant pourra sentir une légère douleur au moment de le piquer pour effectuer le test rapide ou le prélèvement du sang, il peut également ressentir une fatigue due au médicament que nous lui donnerons. Nous vous conseillons que l'enfant doit bien manger chaque fois avant de prendre son traitement. Toutes les informations que vous nous fournirez resteront strictement confidentielles et ne seront transmises à personne en dehors de l'équipe de l'étude. La participation à cette étude est totalement volontaire. Si vous décidez de ne pas participer cela ne portera aucun préjudice à votre relation avec l'équipe de recherche ou avec le personnel sanitaire de votre localité.

Nous souhaiterions que votre/vos enfant(s) participe(nt) à cette étude qui est particulièrement importante pour la santé dans notre pays.

Avez-vous des questions à me poser sur l'étude ?

Si vous avez des questions à tout moment concernant l'étude, vous pouvez contacter **Pr Bigoga Jude** ((Tél : 677 82 47 30)

Puis-je commencer maintenant l'entretien pour recruter votre /vos enfant(s)?

Je soussigné, _____ certifie avoir été bien informé du but et des procédures de l'étude ci-dessus. Toutes les questions que j'ai posées à l'équipe de recherche ont reçu une réponse appropriée. J'accepte librement la participation de mes enfants à l'étude en question. J'ai été informé du fait que je peux me retirer de l'étude à tout moment sans aucun préjudice.

1) Nom du parent/tuteur : _____ Signature :

2) Nom du témoin : _____ Signature :

MODULE 0 : IDENTIFICATION DU MENAGE

<i>Code ménage (Obligatoire)</i>	
<i>NUMERO SEQUENTIEL DU MENAGE (ne pas remplir)</i>	

<i>Q01</i> District de santé 1. Garoua Urbain 2. Pitoa 3. Mayo Oulo _____	_ _
<i>Q02</i> Aire de santé (CF Code) _____	_ _ _
<i>Q03</i> Village (quartier/village) (CF Code) _____	_ _ _
<i>Q04</i> NOM DU CHEF DE MENAGE : _____ /	
<i>Q05</i> NOMBRE DE PERSONNES DANS LE MENAGE (Non compris les visiteurs)	<input type="text"/> <input type="text"/>

MODULE 1 : COMPOSITION DU MENAGE ET UTILISATION DES MOUSTIQUAIRES

Je vais vous demander les noms et prénoms de tous les membres du ménage, en commençant par le chef de ménage et vous poser quelques questions concernant chaque membre.

Q06	Q07	Q08	Q09	Q10	Q11	Q12	13	Q14	Q15
N°	Noms et prénoms des membres du ménage	Quel est le lien de parenté de (Nom) avec le Chef de Ménage ? CF CODES	(Nom) est de quel sexe ? 1=Masculin 2=Féminin	Quel est l'âge de (Nom) ? Inscrivez l'âge en années révolues. 98 pour NSP)	Est-ce que (Nom) vit habituellement dans ce village/quartier? 1 = Oui 2 = Non	Si la réponse est « Oui » à la question précédente (question 11, (Nom) a-t-il séjourné plus de six mois dans ce village/quartier 1 = Oui 2 = Non	(Nom) a-t-il dormi la nuit dernière à l'intérieur ou à l'extérieur de la maison ? 1. Intérieur de la maison 2. Extérieur de la maison	(Nom) a-t-il dormi sous moustiquaire la nuit dernière? 1=Oui 2→ 2=Non → MODULE 2	Si oui, (Nom) a dormi sous quelle moustiquaire ? (indiquer le numéro de la moustiquaire à rtir du MODULE 3)
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _
		_ _	_	_ _ 	_	_	_	_	_ _

CODES POUR Q 7 LIEN DE PARENTÉ AVEC LE CHEF DE MÉNAGE

CHEF DE MÉNAGE01
FEMME OU MARI 02
FILS OU FILLE.....03
GENDRE OU BELLE-FILLE04
PETIT-FILS/FILLE05

PÈRE/MÈRE06
BEAU-PÈRE/BELLE-MERE07
FRÈRE OU SŒUR08
NIÉE/NEVEU DIRECT09
NIÉE/NEVEU PAR ALLIANCE.....10

AUTRES PARENTS11
ADOPTÉ/EN GARDE/ENFANT DE LA FEMME/MARI.....12
SANS PARENTÉ13
NE SAIT PAS98

MODULE 2 : POSSESSION ET CONNAISSANCE DU LIEU D'ACHAT DES MOUSTIQUAIRES

Maintenant nous voudrions avoir des informations sur l'achat, la possession et l'utilisation des moustiquaires de votre ménage

No	Questions et Filtres	Reponses	Code
Q16	Avez-vous une moustiquaire dans cette maison installée et utilisée par les membres du ménage? <i>(Si oui aller à Q14)</i>	1. Oui 2. Non	__
Q17	Si non, pourquoi n'avez-vous pas de moustiquaire dans votre maison? <i>(ALLER AU MODULE 4)</i>	1. Je n'ai pas les moyens (financiers) 2. Ce n'est pas nécessaire 3. J'utilise autre chose 4. Il n'y a pas beaucoup de moustiques ici 5. Je n'aime pas la moustiquaire 6. Par oubli 7. Autres (à préciser)	__
Q18	Si oui, est-ce que les membres de votre ménage dorment sous une moustiquaire de manière continue pendant toute l'année?	1. Oui 2. Non 9. Ne sais pas	__
Q19	Combien de moustiquaires y a-t-il dans votre maison ?		__ __
Q20	Combien de ces moustiquaires sont imprégnées <i>(C'est à dire qui ont été trempées dans un liquide depuis au moins 6 mois)</i> (99 si NSP)		__ __

NSP : Ne Sait Pas

MODULE 3 : POSSESSION ET UTILISATIONS DES MOUSTIQUAIRES

		Moustiquaire 1	Moustiquaire 2	Moustiquaire 3	Moustiquaire 4	Moustiquaire 5	Moustiquaire 6
Q21	Demander à l'enquêté à voir les moustiquaires du ménage 1. VUE 2. Non VUE	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q22	Depuis combien de mois votre ménage a-t-il cette moustiquaire? <i>(00 si moins d'un mois et 95 si 36 mois ou plus)</i>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Q23	Comment avez-vous obtenu cette moustiquaire ? 1. Achat 2. Campagne de masse 3. Distribution en Consultation Prénatale (CPN) 4. don d'une ONG 5. Famille/ami 6. Autre 9. Ne Sait Pas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q24	Cette moustiquaire est de quelle marque ? 1. Permanet 2. Olyset 3. Autre MILDA 4. Moustiquaire non traitée 9. Ne sait pas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q25	Est-ce que la nuit dernière, quelqu'un a dormi sous cette moustiquaire? 1. Oui 2. Non 9. NSP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q26	SI oui, qui a dormi sous cette moustiquaire la nuit dernière ? <i>(Noter le numéro (Q 6) des personnes à partir du tableau ménage dans le bac et remplir le module utilisation des moustiquaires)</i>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

MODULE 4: EXAMEN PHYSIQUE ET BILAN BIOLOGIQUE DU PALUDISME POUR LES ENFANTS DE MOINS DE 10 ANS DANS LE MENAGE

Situation des enfants éligibles du ménage (enfants de moins de 10ans)

Code ménage	Code enfant	Nom et prénom	Age (Mois)	Sexe (M/F)	Température (°C)	Etat des conjonctives*	L'enfant a-t-il eu la fièvre il y a deux semaines (1=Oui ; 2=Non)	TDR			ACT (1=Oui / 2=Non)	Parasites						
								(1=Oui 2=Non 3=Refus)	Résultat			P. falciparum	P. ovale	Charge parasitaire				
	Pf	pa n																

*1= Normales ; 2=moyennement colorées ; 3= Pâles ; 4= pas normales mais difficile à apprécier

Annexe 5 : Préparation d'une solution-mère de Giemsa

La coloration au Giemsa est une méthode classique qui donne des résultats fiables, employée pour la coloration en routine des étalements sanguins confectionnés pour le diagnostic du paludisme.

Formule

Giemsa en poudre	3,8 g
Méthanol	250 ml
Glycérol	250 ml

Préparation

Il est préférable d'employer un flacon en verre brun mais si l'on n'en a pas, on peut utiliser une bouteille en polyéthylène ou en pyrex blanc convenable, chimiquement propre, et sèche. Il faut également une cinquantaine de billes de verre pleines environ 5 mm de diamètre.

1) Mettre les billes de verres dans la bouteille ; verser le volume mesuré de méthanol et ajouter le colorant en poudre.

2) Bien fermer la bouteille. Laisser la poudre tomber lentement dans le méthanol et se déposer au fond. Agiter le flacon d'un mouvement circulaire pendant 2 à 3 minutes.

3) Ajouter le volume mesuré de glycérol et renouveler l'agitation. Agiter de nouveau pendant 2 à 3 minutes à intervalles d'environ une demi-heure, six fois au moins.

4) Mettre la bouteille de côté 2 à 3 jours et agiter périodiquement 3 à 4 fois par jour jusqu'à ce que le colorant soit parfaitement mélangé. Pour éviter de contaminer la solution-mère, mettre un peu de cette solution dans un petit flacon qui sera utilisée en routine.

Chacun des lots de colorant fraîchement préparé sera étiqueté convenablement et portera notamment la date de préparation ; il sera soumis à des essais pour déterminer la dilution optimale et le temps de coloration. Toujours maintenir la bouteille bien fermée dans un endroit frais, à l'abri de la lumière solaire directe. Les bouteilles de solution-mère en verre blanc peuvent être recouvertes d'une enveloppe de papier noir épais pour les protéger de la lumière.

Annexe 6 : préparation des solutions tampons pour la coloration des plasmodies

La coloration des parasites du paludisme par le Giemsa nécessite un tampon phosphate ajusté très exactement à pH 7,2.

1) Solution à préparer quotidiennement

1.1) Dissoudre 1,0 g d'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4) anhydre et 0,7 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) dans 1 litre d'eau distillée ou même de l'eau du robinet.

1.2) Contrôler le pH (à l'aide d'un pH mètre ou d'un indicateur coloré comme le Lovidond Comparator).

1.3) Pour remonter le pH à 7,2 ajouter par petites quantités du Na_2HPO_4 en solution à 2 % ; pour l'abaisser à 7,2 ajouter par petites quantités une solution de KH_2PO_4 .

1.4) Une fois le pH ajusté à 7,2, conserver dans un flacon bouché à l'émeri, de préférence en verre brun, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière solaire directe.

2) Solution-mère, pratique pour les déplacements sur le terrain ou l'envoi dans les antennes éloignées.

2.1) Dissoudre 3,0 g de Na_2HPO_4 anhydre et 2,1 g de KH_2PO_4 dans 25 ml d'eau distillée ou désionisée.

2.2) Ajuster le pH à 7,2 par la méthode décrite dans le paragraphe 1.3 ci-dessus.

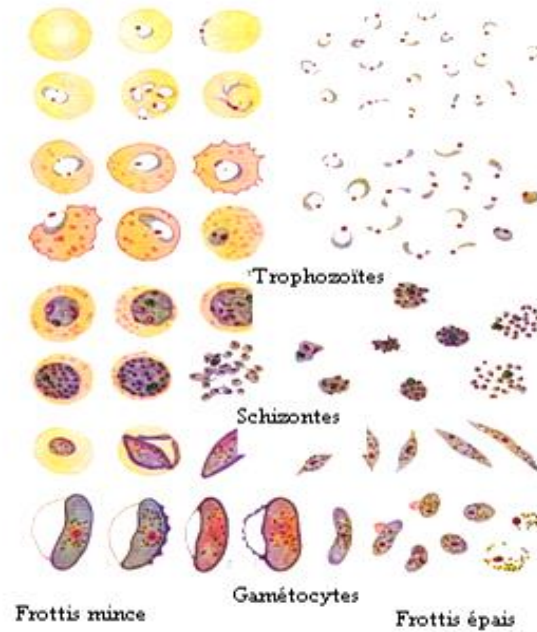
2.3) Conserver dans un flacon en verre brun à l'abri de la lumière solaire directe ; se conserve plusieurs semaines.

2.4) Pour préparer la solution de travail, diluer 1 ml de concentré dans 20 ml d'eau distillée ou désionisée.

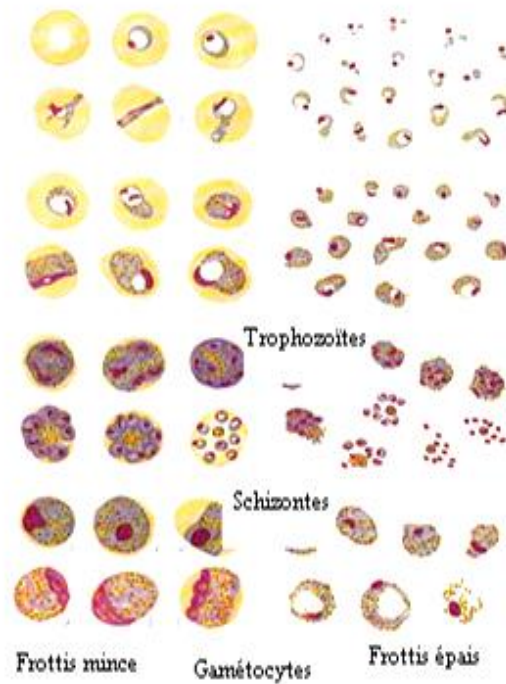
3) Pré-pesage des sels

Les deux phosphates ci-dessus peuvent être pré-pesés et placés ensemble dans un récipient (tube ou flacon bien fermé ou sachet en matière plastique bien scellé) étiqueté lisiblement et conservé dans un flacon fermant à vis. Une fois le contenu ajouté à 1 litre d'eau, il faut ajuster le pH de la solution à 7,2. Utiliser de la manière habituelle.

Annexe 7a : Diagnostic du paludisme, *P. falciparum* et *P. malariae*

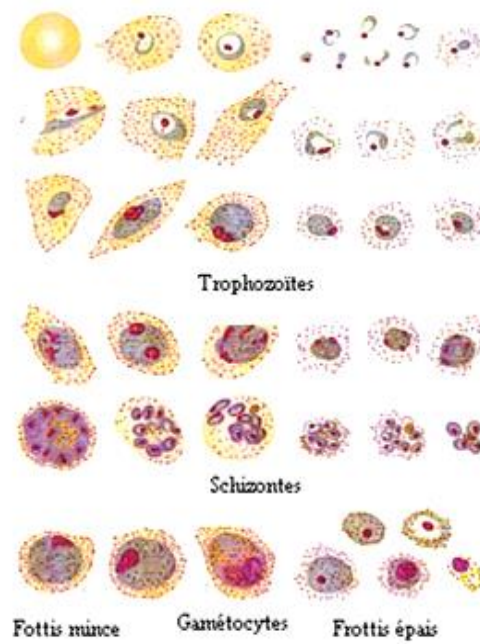


P. falciparum à divers stades, en frottis mince et en frottis épais, Coloration au Giemsa, (OMS, 1985)

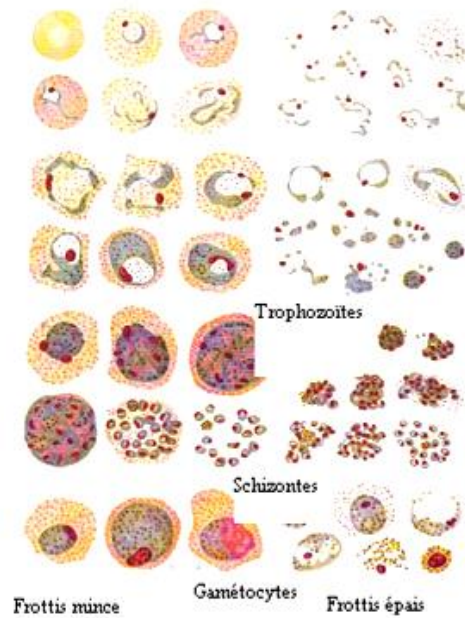


P. malariae à divers stades, en frottis mince et en frottis épais ; coloration au Giemsa, OMS, (1985).

Annexe 7b : Diagnostic du paludisme, *P. ovale* et *P. vivax*

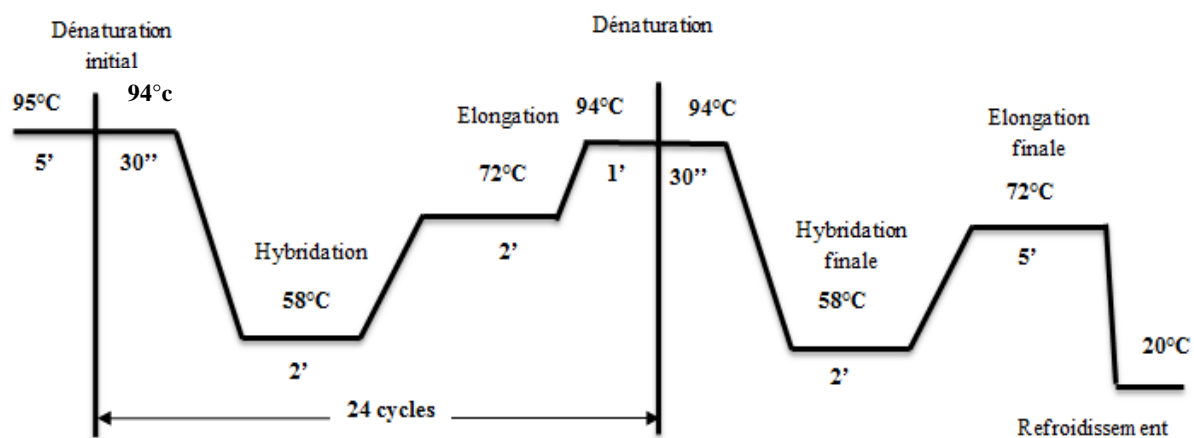


P. ovale, en frottis mince et en frottis épais, coloration au Giemsa, OMS, (1985)



P. vivax en frottis épais et en frottis mince, coloration au Giemsa, OMS, (1985)

Annexe 8 : Conditions d'amplification de l'ADN du *plasmodium*



Conditions d'amplification pour la réaction de Nest-1

Annexe 8 : Géolocalisation des 38 villages dans les trois districts de sante de l'étude

District de santé de GAROUA		
	Coordonnées GPS	
Villages (Code)	Longitude	Latitude
Bocki (BOK)	N 09°21'32,0''	E 013°26'06,5''
Djamboutou I (DJA)	N 09°19'07,5''	E 013°21'09,2''
Djamboutou II (DJM)	N 09°18'19,3''	E 013°20'48,3''
Kanadi I (KAN)	N 09°18'05,9''	E 018°22'09,6''
Kanadi II (KAD)	N 09°18'07,7''	E 013°22'29,9''
Kollere (KOL)	N 09°18'02,9''	E 013°23'40,2''
Laïndé I (LAI)	N 09°20'30,2''	E 013°25'14,1''
Laïndé II (LAN)	N 09°20'39,7''	E 013°25'01,5''
Louderou (LOU)	N 09°19'58,6''	E 013°19'31,9''
Mbilga (MBI)	N 09°23'06,5''	E 013°27'53,4''
Mboum Aviation (MBA)	N 09°20'40,8''	E 013°23'04,2''
Nassarao (NAS)	N 09°21'40,0''	E 013°26'24,4''
Ouro Garga (OUR)	N 09°16'30,4''	E 013°17'55,7''
Ouro Hourso I (OUR)	N 09°17'44,1''	E 013°22'56,0''
Ouro Hourso II (OUH)	N 09°17'35,4''	E 013°22'37,8''
Ouro Lawan (OUL)	N 09°21'30,7''	E 013°25'39,4''
Plateau (PLA)	N 09°18'21,3''	E 013°22'55,1''

District de santé de PITO A		
	Coordonnées GPS	
Villages (Code)	Longitude	Latitude
Guizigare (GUI)	N 09°24'25,2''	E 013°31'01,8''
Boulgou (BOL)	N 09°25'13''	E 013°28'87''
Lombou (LOM)	N 09°20'54''	E 013°32'25''
Banaye (BAN)	N 09°28'07''	E 013°30'47''
Pene (PEN)	N 09°34'47''	E 013°37'13,0''
Kirambo (KIR)	N 09°28'25''	E 013°32'46''
Be Centre (BEC)	N 09°18'54''	E 013°40'21''
Nassarao-Be(NAB)	N 09°18'58''	E 013°43'22''
Mbolom (MBO)	N 09°19'72''	E 013°39'29''
Boula-Ibib (BOI)	N 09°29'38''	E 013°41'27''
Mayo Lebri (MAL)	N 09°31'02,7''	E 013°44'16,2''
Boussa (BOU)	N 09°32'36,42''	E 013°50'46,4''

District de santé de MAYO OULO		
	Coordonnées GPS	
Villages (Code)	Longitude	Latitude
Mayo Oulo (MAY)	N 09°58'02,3''	E 013°36'81,9''
Botoun (BOT)	N 09°56'461''	E 013°40'90,7''
Bouyoum (BOU)	N 09°56'370''	E 013°38'91,0''
Dourbaye (DOR)	N 09°59'67,2''	E 013°30'21,6''
Bala (BAL)	N 10°00'36,7''	E 013°28'02,4''
Doumo (DOM)	N 10°03'646''	E 013°18'25,2''
Matara (MAT)	N 10°03'206''	E 013°18'15,9''
Bossoum (BOS)	N 09°56'22,8''	E 013°42'50,6''
Maboni (MAB)	N 10°02'750''	E 013°19'90,7''

Annexe 9 : Clairance Ethique



COMITÉ NATIONAL D'ETHIQUE NATIONAL ETHICS COMMITTEE



N° d'enregistrement : FWA IRB00001954 BP 1937, Yaoundé, Tel: (237)-221 12 84
Arrêté N° 079 /A/MSP/DS du 22 OCTOBRE 1987 portant création et organisation d'un
Comité d'Ethique sur la recherche impliquant les êtres humains

cneprot@yahoo.fr

Yaoundé le, 29 Juillet 2009

AUTORISATION N° 102/CNE/SE/09

CLAIRANCE ETHIQUE

Le Comité National d'Ethique a réexaminé ce 17 juillet 2009, la demande de clairance éthique du projet de recherche intitulé : **"IMPACT OF INSECTICIDE RESISTANCE ON THE EFFECTIVENESS OF LONG LASTING INSECTICIDAL TREATED NET IN NORTH CAMEROON"** introduit par le Dr. NDONG A BESSONG Prosper, Investigateur Principal local du projet.

Ce projet présente une valeur sociale certaine. Sa mise en œuvre serait une contribution significative à la prévention primaire du paludisme en Afrique. Le protocole de recherche présenté présume un projet scientifiquement valide. Le projet comporte les risques de non respect de confidentialité sur les données et de l'autonomie des participants. Les procédures décrites de prévention de ces risques permettraient d'en minimiser la probabilité de survenue. Les CVs des investigateurs les décrivent capables de mettre en œuvre le protocole. Le dossier de soumission est complet. Le projet est ainsi en ligne avec la réglementation de la recherche sur les êtres humains au Cameroun et les principes éthiques protégeant les droits et la dignité des potentiels participants à la recherche. De ce fait, le comité a approuvé pour une période d'un an, la mise en œuvre de la présente version du protocole.

L'investigateur principal est responsable du respect scrupuleux du protocole approuvé et ne devra y apporter aucun amendement aussi mineur soit-il sans avis favorable du comité national d'éthique. Il devra informer au premier cas et le plus tôt possible le Comité National d'Ethique, l'Autorité Sanitaire du Cameroun, et le promoteur du présent projet, de la survenue de tout incident inattendu lors de la mise en œuvre du protocole. Il est appelé à collaborer pour toutes descentes du Comité National d'Ethique pour suivi de la mise en œuvre dudit protocole. Les rapports annuels et le rapport final du projet devront être soumis au comité d'éthique et aux autorités sanitaires du Cameroun à la fin de l'étude.

La présente clairance peut être retirée en cas de non respect de la réglementation en vigueur et des recommandations sus-évoquées.



Président

Lazare KAPTUE

Annexe 10 : Fiche de report des tests de sensibilité

Insecticide testé : Concentration :

Humidité relative : Température :

Espèces testé : Localité :

Nom du technicien :

	Tube 1		Tube 2		Tube 3		Tube 4		Tube témoin	
Nombre. exposé										
Nombre de moustiques knock down (KD) après exposition										
	Tube 1		Tube 2		Tube 3		Tube 4		Tube témoin	
	Temps (min)	No.	Temps (min)	No.	Temps (min)	No.	Temps (min)	No.	Temps (min)	No.
Début										
10'										
15'										
20'										
30'										
40'										
50'										
60'										
Nombre de moustiques mort/vivant à après une observation de 24h										
	Tube 1		Tube 2		Tube 3		Tube 4		Tube témoin	
No. Mort										
No. Vivant										

A compléter par le superviseur à la fin du test

Je confirme que les résultats sont conformes aux observations expérimentales

Commentaires.....

Nom.....

Signature.....

Date :.../.../.....

Annexe 11 : Liste réactif pour ELISA-CSP et principe

1- **Tampon phosphate PBS** (phosphate buffered saline, pH ~7.4 de Dulbecco's PBS (Sigma #D5773)

2- **Tampon de blocage ou blocking buffer (BB).**

Composition: PBS, pH 7,4; caséine; NaOH 0,1 N; phenol red)

Pour 500ml de BB, apprêter 450 ml de PBS, 2,5 g de caséine, 50 ml de NaOH 0,1 N et 100µl de phenol red.

Préparation: Suspandre dans le NaOH 0,1N et porté le tout à ébullition. Après dissolution complète de la caséine, ajouter progressivement le PBS, et laisser refroidir. Ajuster le pH à 7,4.

3- **Solution de broyage BB:IG-630** (1 ml BB plus 5 µl IGEPAL)

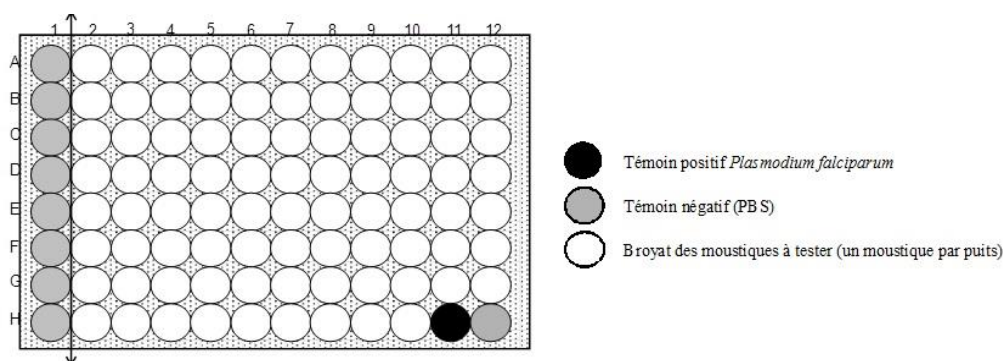
4- **Solution de lavage PBS:Tw** (PBS plus 0,05% de Tween 20)

5- **Anticorps monoclonaux de capture**, non marqué à la peroxydase

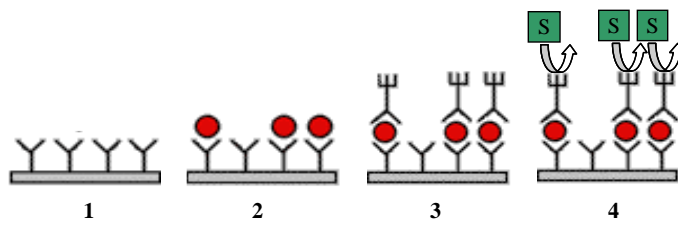
6- **Anticorps monoclonaux conjugués**, marqués à la peroxydase

7- **Contrôle négatif:** broyat de moustiques d'élevage

8- **Contrôle positif:** solution de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum*



Plaque de micro titration ELISA-CSP



- Paroi d'un puits sur la plaque
- Y Anticorps de capture
- Protéine CSP
- ⌘ Anticorps conjugué à la peroxydase
- S Substrat de la peroxydase

- 1 : Adsorption de l'anticorps de capture sur la paroi du puits
- 2 : Capture de la protéine CSP par les anticorps de capture spécifique de l'espèce recherchée (*P. falciparum*)
- 3 : Formation du complexe Anticorps de Capture - Protéine CSP- Anticorps Conjugué
- 4 : Révélation du complexe par addition du substrat de la peroxydase

Principe de l'ELISA Circumsporozoïtique (CSP)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W.S., *A method of computing the effectiveness of an insecticide*, Journal of Economic Entomology, 18, 265–267, (1925).
- Abdullah N.R., Furuta T., Taib R., Kita K., Kojima S. & Wah M.J., *Short report: development of a new diagnostic method for Plasmodium falciparum infection using a reverse transcriptase-polymerase chain reaction*, The American journal of tropical medicine and hygiene, 54(2), 162–163, (1996).
- Akogbéto M.C., Padonou G., Gbénou D., Irish S., Yadouleton A.W. *Bendiocarb, a potential alternative against pyrethroid resistant Anopheles gambiae in Benin, West Africa*. Malaria Journal 9, (2010).
- Alout H., Djègbè I., Chandre F., Djogbénou L.S., Dabiré R.K., Corbel V. & Cohuet A., *Insecticide exposure impacts vector-parasite interactions in insecticide-resistant malaria vectors*, Proceedings of the Royal Society, 281(1786), 20140389, (2014).
- Ansell J., Hamilton K.A., Pinder M., Walraven G.E. L. & Lindsay S.W., *Short-range attractiveness of pregnant women to Anopheles gambiae mosquitoes*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 96(2), 113–116, (2002).
- Antonio-Nkondjio C., Atangana J., Ndo C., Awono-Ambene P., Fondjo E., Fontenille D. & Simard F., *Malaria transmission and rice cultivation in Lagdo, northern Cameroon*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 102, 352–359, (2008).
- Antonio-Nkondjio C., Awono-Ambene H., Toto J., Meunier J., Zebaze-Kemleu S., Nyambam R., Wondji C., Tchuinkam T. & Fontenille D., *High malaria transmission intensity in sub-urban area of Yaounde: the capital city of Cameroon*, Journal of Medical Entomology, 39, 350–355, (2002).
- Antonio-Nkondjio C., Keraf C.H., Simard F., Awono-Ambene P., Chouaibou M., Tchuinkam T. & Fontenille D., *Complexity of malaria vectorial system in Cameroon: contribution of secondary vectors to malaria transmission*, Journal of Medical Entomology, 43(6), 1215–1221, (2006).

- Antonio-Nkondjio C., Tene-Fossog B., Ndo C., Menze-Djantio B., Zebaze-Togouet S., Awono-Ambene H., Costantini C., Wondji C. & Ranson H. *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution, *Malaria Journal*, 10, 154, (2011).
- Antonio-Nkondjio C., Tene Fossog B., Kopya, E., Poumachu Y., Menze Djantio B., Ndo C., Tchuinkam, T., Awono-Ambene, P., Wondji, C.S. *Rapid evolution of pyrethroid resistance prevalence in Anopheles gambiae* populations from the cities of Douala and Yaounde (Cameroon). *Malaria Journal*, 14, 155, (2015)
- Armstrong-Schellenberg J.R., Smith T., Alonso P.L. & Hayes R., *What is clinical malaria? Finding case definitions for field research in highly endemic areas*, *Parasitology Today*, 10, 439–441, (1994).
- Atangana J., Bigoga J.D., Patchoke S., Ndjemai M.N., Tabue R.N., Nem T. E. & Fondjo E., *Anopheline fauna and malaria transmission in four ecologically distinct zones in Cameroon*, *Acta Tropica*, 115(1–2), 131–136, (2010).
- Atangana J., Fomena A., Tamesse J.L. & Fondjo E., *Agricultural activities and epidemiology of malaria in Soudano-Sahelian zone in Cameroon*. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 105(1), 23–29, (2012).
- Atangana S., Foubi J., Charlois M., Ambroise-Thomas P. & Ripert C., *Epidemiological study of onchocerciasis and malaria in Bamendjin dam area (Cameroon). Malacologic fauna and risks of schistosomian introduction*. *Médecine Tropicale: Revue Du Corps De Santé Colonial*, 39(5), 537–543, (1979).
- Awolola T.S., Oduola O.A., Strode C., Koekemoer L.L., Brooke B. & Ranson H., *Evidence of multiple pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector Anopheles gambiae sensu stricto from Nigeria*, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(11), 1139–1145, (2009).
- Ayala D., Costantini C., Ose K., Kamdem G.C., Antonio-Nkondjio C., Agbor J.P., Awono-Ambene H.P., Fontenille D. & Simard F., *Habitat suitability and ecological niche profile of major malaria vectors in Cameroon*, *Malaria Journal*, 8, 307, (2009).

- Ayala F.J., Coluzzi M. *Chromosome speciation: humans, Drosophila, and mosquitoes*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 102, (2005).
- Bagi J., Grisales N., Corkill R., Morgan J.C., N'Falé S., Brogdon W.G. & Ranson H. When a discriminating dose assay is not enough: measuring the intensity of insecticide resistance in malaria vectors, *Malaria Journal*, 14, 210, (2015).
- Beier J.C., *Malaria parasite development in mosquitoes*, Annual Review of Entomology, 43, 519–543, (1998).
- Beier J.C., Perkins P.V., Wirtz R.A., Koros J., Diggs D., Gargam-Ii T.P. & Koech D.K., *Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tested on Anopheles (Diptera: Culicidae) in Kenya*, Journal of Medical Entomology, 25, 9–16, (1988).
- Beklemishev W.N., *Le cycle gonotrophique, principe de base de la biologie de An. gambiae*, Vop Fiziol Ekol Malar Komara, 1, 3, (1940).
- Bernabeu M., Gomez-Perez G.P., Sissoko S., Niambélé M.B., Haibala A.A., Sanz A., Théra M. A., Fernandez-Becerra C., Traoré K., Alonso P.L., Bassat Q., Del Portillo H.A. & Doumbo O., *Plasmodium vivax malaria in Mali: a study from three different regions*, *Malaria Journal*, 5, 405, (2012).
- Bhatt S., Weiss D.J., Cameron E., Bisanzio D., Mappin B., Dalrymple U., Battle K.E., Moyes C.L., Henry A., Eckhoff P.A., Wenger E.A., Briët O., Penny M.A., Smith T.A., Bennett A., Yukich J., Eisele T.P., Griffin J.T., Fergus C.A., Lynch M., Lindgren F., Cohen J.M., Murray C.L.J., Smith D.L., Hay S.I., Cibulskis R.E., Gething P.W. *The effect of malaria control on Plasmodium falciparum in Africa between 2000 and 2015*. Nature 526, 207–211, (2015)
- Bigoga J.D., Manga L., Titanji V.P.K., Etang J., Coetzee M. & Leke R.G.F, *Susceptibility of Anopheles gambiae Giles (Diptera: Culicidae) to pyrethroids, DDT and carbosulfan in coastal Cameroon*, African Entomology, 15(1),133-139, (2007a).

- Bigoga J.D., Manga L., Titanji V.P. K., Coetzee M. & Leke R.G.F. *Malaria vectors and transmission dynamics in the coastal south-western Cameroon*, *Malaria Journal*, 6, 5, (2007b).
- Bigoga J.D., Ndangoh D.N., Awono-Ambene P.H., Patchoke S., Fondjo E. & Leke R.G.F., *Pyrethroid resistance in Anopheles gambiae from the rubber cultivated area of Niete, South Region of Cameroon*, *Acta Tropica*, 124(3), 210–214, (2012).
- Billingsley P.F. & Rudin W., *The role of the mosquito peritrophic membrane in bloodmeal digestion and infectivity of Plasmodium species*, *The Journal of Parasitology*, 78(3), 430–440, (1992).
- Billingsley P.F., *Blood digestion in the mosquito, Anopheles stephensi Liston (Diptera: Culicidae): partial characterization and post-feeding activity of midgut aminopeptidases*, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 15(3), 149–163, (1990).
- Bousema T. & Drakeley C., *Epidemiology and Infectivity of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax Gametocytes in Relation to Malaria Control and Elimination*, *Clinical Microbiology Reviews*, 24(2), 377–410, (2011).
- Boyd M.F. *Malariology. A Comprehensive Survey Of All Aspects Of This Groups Of Diseases From A Global Perspective, Volume 2* (Philadelphia and London, WB Saunders Co, 1949).
- Brasseur P., Badiane M., Cisse M., Agnamey P., Vaillant M.T. & Olliaro P.L., *Changing patterns of malaria during 1996-2010 in an area of moderate transmission in Southern Senegal*, *Malaria journal*, 10(1), 1, (2011).
- Breckenridge C.B., Holden L., Sturgess N., Weiner M., Sheets L., Sargent D., Soderlund D.M., Choi J.S., Symington S., Clark J.M., Burr S. & Ray D., *Evidence for a separate mechanism of toxicity for the Type I and the Type II pyrethroid insecticides*, *Neurotoxicology*, 1, S17-31, (2009).
- Brévault T. & Achaleke J., *Status of pyrethroid resistance in the cotton bollworm, Helicoverpa armigera*, *Resistant Pest Management Newsletter*, 15(1), 4–7, (2005).

- Bruce-Chwatt J., Gockel C. & Weitz B., *A study of the blood-feeding patterns of Anopheles mosquitoes through precipitin tests. Results of collaborative work for the period 1955-59 and their application to malaria eradication programmes*, Bulletin of the World Health Organization, 22(6), 685–720, (1960).
- Bruce-Chwatt L.J., *A longitudinal longitudinal survey of natural malaria infection in a group of West African adults. I*, The West African Medical Journal, 12, 141–173, (1963).
- Bruce-Chwatt L.J., *Essential Malariology* (William Heinemann Medical Books Ltd, London, 1985).
- Bruce-Chwatt L.J., in *Malaria: Principles and Practice of Malariology* (eds. Wernsdorfer, W.H. & McGregor, I.) (Churchill Livingstone, Edinburgh, 1988).
- Bruce-Chwatt L.J., *Parasite Density Index in Malaria*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 52(4), 389, (1958).
- Buffaz C., Hodille E., Jourdy Y., Louvrier C. & Marijon A., *Parasitologie et mycologie médicale pratique*. (De Boeck, 2014).
- Burkot T.R., Williams J.L. & Schneider I., *Identification of Plasmodium falciparum-infected mosquitoes by a double antibody enzyme linked immunosorbent assay*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 33, 783–788, (1984).
- Carneiro I., Roca-Feltre A., Griffin J.T., Smith L., Tanner M., Schellenberg J.A., Greenwood B. & Schellenberg D., *Age-patterns of malaria vary with severity, transmission intensity and seasonality in sub-Saharan Africa: a systematic review and pooled analysis*, PLoS ONE, 5(2), e8988, (2010).
- Carnevale P & Robert V. Les anophèles. *Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle*. Marseille, Institut de Recherche pour le Développement (2009).
- Carnevale P., Bosseno M.F., Molinier M., Lancien J., Le Pont F. & Zoulani A., *Etude du cycle gonotrophique d'Anopheles gambiae (Diptera, Culicidae) (Giles, 1902) en zone de forêt dégradée d'Afrique Centrale*, Office de la Recherche Scientifique d'Outre-Mer, 17, 55–75, (1979).

CDC - DPDx - Malaria. <http://www.cdc.gov/dpdx/malaria/>

CDC-Centers for Disease Control and Prevention. CDC - Malaria - About Malaria - Biology - Mosquitoes - Global Distribution (Robinson Projection) of Dominant or Potentially Important Malaria Vectors.

<http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/map.html>

Ceesay S.J., Casals-Pascual C., Erskine J., Anya S.E., Duah N.O., Fulford A.J., Sesay S. S., Abubakar I., Dunyo S. & Sey O., *Changes in malaria indices between 1999 and 2007 in The Gambia: a retrospective analysis*, Lancet, 372, 1545–1554, (2008).

Chadee D.D., *Seasonal abundance, biting cycle, and parity of the mosquito Anopheles homunculus in Trinidad, West Indies*, Journal of the American Mosquito Control Association, 10(4), 522–526, (1994).

Chandre F., Manguin S., Brengues C., Dossou Yovo J., Darriet F., Diabate A., Carnevale P., Guillet P. Current distribution of a pyrethroid resistance gene (kdr) in *Anopheles gambiae* complex from west Africa and further evidence for reproductive isolation of the Mopti form. *Parassitologia* 41(1999)

Cheesbrough M., *District Laboratory Practice In Tropical Countries* (Cambridge University press, 2006).

Chitnis C.E. & Blackman M.J., *Host cell invasion by malaria parasites*. *Parasitology Today*, 16(10), 411–415, (2000).

Chouaibou M., Etang J., Brevault T., Nwane P., Hinzoumbe C.K., Mimpfoundi R. & Simard F., *Dynamics of insecticide resistance in the malaria vector Anopheles gambiae s.l. from an area of extensive cotton cultivation in Northern Cameroon*, *Tropical Medicine & International Health*, 13(4), 476–486, (2008).

Chouaibou M., Simard F., Chandre F., Etang J., Darriet F. & Hougard J.M., *Efficacy of bifenthrin-impregnated bednets against Anopheles funestus and pyrethroid-resistant Anopheles gambiae in North Cameroon*, *Malaria Journal*, 5, 77, (2006).

- Churcher, T.S., Lissenden, N., Griffin, J.T., Worrall, E., Ranson, H. The impact of pyrethroid resistance on the efficacy and effectiveness of bednets for malaria control in Africa. *eLife* 5, (2016).
- Clayton J., *Scientists plan field tests for GM mosquitoes*, *The Lancet Infectious Diseases*, 6, 191–2, (2006).
- Coetzee M., Craig M. & le Sueur D., *Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the Anopheles gambiae complex*, *Parasitology Today*, 16, 74–77, (2000).
- Coetzee M., Hunt R.H., Wilkerson R., Della Torre A., Coulibaly M.B. & Besansky N.J., *Anopheles coluzzii and Anopheles amharicus, new members of the Anopheles gambiae complex*, *Zootaxa* 3619, 246–274, (2013).
- Cohuet A., Simard F., Wondji C.S., Antonio-Nkondjio C., Awono-Ambene P. & Fontenille D., *High malaria transmission intensity due to Anopheles funestus (Diptera: Culicidae) in a village of savannah-forest transition area in Cameroon*, *Journal of Medical Entomology*, 41(5), 901–905, (2004).
- Collins F.H. & Paskewitz S.M., *A review of the use of ribosomal DNA (rDNA) to differentiate among cryptic Anopheles species*, *Insect Molecular Biology*, 5, 1–9, (1996).
- Collins F.H., Mendez M.A., Rasmussen M.O., Mehaffey P.C., Besansky N.J. & Finnerty V., *A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of the Anopheles gambiae complex*, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37, 37–41, (1987).
- Collins F.H., Paskewitz S.M., & Finnerty V., in *Advances in Disease Vector Research* (ed. Harris, K. F.) (Springer New York, New York, NY, 1990).
- Collins W.E. & Jeffery G.M., *Plasmodium malariae: parasite and disease*, *Clinical Microbiology Reviews*, 20, 579–592, (2007).
- Coluzzi M., Petrarca V., Di Deco, M.A. *Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in Anopheles gambiae*. *Boll. Zool.* 52, (1985).

- Coluzzi M., Sabatini A., Petrarca V. & Deco M.A., *Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the Anopheles gambiae complex*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 73, 483–497, (1979).
- Coluzzi M., Sabatini A., della Torre A., Di Deco M.A., Petrarca V. *A polytene chromosome analysis of the Anopheles gambiae species complex*. Science 298, (2002).
- Coluzzi M. *Malaria vector analysis and control*. Parasitol Today 8, (1992).
- Corbel V., Akogbeto M., Damien G.B., Djenontin A., Chandre F., Rogier C. *Combination of malaria vector control interventions in pyrethroid resistance area in Benin: a cluster randomised controlled trial*. Lancet Infectious Diseases 12:617-626, (2012).
- Cox F.E., *History of the discovery of the malaria parasites and their vectors*, Parasites & Vectors, 3(1), 5, (2010).
- Cox-Singh J. & Singh B., *Knowlesi malaria: newly emergent and of public health importance?*, Trends in Parasitology, 24(9), 406–410, (2008).
- Cox-Singh J., Davis T. M.E., Lee-Kim S. & Shamsui S.S.G., *Plasmodium knowlesi malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening*, Clinical Infectious Diseases, 46, 165–171, (2008).
- Curtis C.F., *Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance*, Bulletin of Entomological Research, 75(2), 259–266, (1985).
- Da D., Mouline K. & Awono-Ambene H., *Anopheles rufipes remains a potential malaria vector after the first detection of infected specimens in 1960 in Burkina Faso*, Journal of Infectious Diseases and Therapy, 1, 112, (2013).
- Danis K., Baka A., Lenglet A., Van Bortel W., Terzaki I., Tseroni M., Detsis M., Papanikolaou E., Balaska A., Gewehr S., Dugas G., Sideroglou T., Economopoulou A., Vakalis N., Tsiodras S., Bonovas S. & Kremastinou J., *Autochthonous Plasmodium vivax malaria in Greece, 2011*, Eurosurveillance 16(42), 19993, (2011).
- David J.P., Strode C., Vontas J., Nikou D., Vaughan A., Pignatelli P.M., Louis C., Hemingway J. & Ranson H., *The Anopheles gambiae detoxification chip: a highly specific*

- microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(11), 4080–4084, (2005).
- Davies T.G.E., Field L.M., Usherwood P.N.R. & Williamson M.S., *DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels*, IUBMB life 59(3), 151–162, (2007).
- della Torre A., Fanello C., Akogbeto M., Dossou-yovo J., Favia G., Petrarca V. & Coluzzi M., *Molecular evidence of incipient speciation within Anopheles gambiae s.s. in West Africa*, Insect Molecular Biology, 10, 9–18, (2001).
- Delley V., Bouvier P., Breslow N., Doumbo O., Sagara I., Diakite M., Mauris A., Dolo A. & Rougemont A., *What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali*, Tropical medicine & international health, 5(6), 404–412, (2000).
- Dia I., Diop T., Rakotoarivony I., Kengne P. & Fontenille D., *Bionomics of Anopheles gambiae Giles, An. arabiensis Patton, An. funestus Giles and An. nili (Theobald) (Diptera: Culicidae) and transmission of Plasmodium falciparum in a Sudano-Guinean zone (Ngari, Senegal)*, Journal of medical entomology, 40(3), 279–83, (2003).
- Diabate A., Baldet T., Chandre F., Akoobeto M., Guiguemde T.R., Darriet F., Brengues C., Guillet P., Hemingway J., Small G.J. & Hougaard J.M., *The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in Anopheles gambiae s.l. in Burkina Faso*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 67(6), 617–622, (2002).
- Diabaté A., Dabiré R.K., Heidenberger K., Crawford J., Lamp W.O., Culler L.E. & Lehmann T., *Evidence for divergent selection between the molecular forms of Anopheles gambiae: role of predation*, BMC Evolutionary Biology, 8, 5, (2008).
- Diabate A., Dabire R.K., Kim E.H., Dalton R., Millogo N., Baldet T., Simard F., Gimnig J. E., Hawley W. A. & Lehmann T., *Larval development of the molecular forms of Anopheles gambiae (Diptera: Culicidae) in different habitats: a transplantation experiment*, Journal of Medical Entomology, 42, 548–553, (2005).

- Djogbénu L., Chandre F., Berthomieu A., Dabiré R., Koffi A., Alout H., Weill M. *Evidence of Introgression of the ace-1R Mutation and of the ace-1 Duplication in West African Anopheles gambiae s. s.* PLoS ONE 3, e2172, (2008)
- Djouaka R.F., Bakare A.A., Coulibaly O.N., Akogbéto M.C., Ranson H. & Hemingway J., *Expression of the cytochrome P450s, CYP6P3 and CYP6M2 are significantly elevated in multiple pyrethroid resistant populations of Anopheles gambiae s.s. from Southern Benin and Nigeria*, BMC Genomics, 9, 538, (2008).
- Dolo G., Briet O.J.T., Dao A., Traore S.F., Bouare M., Sogoba N., Niare O., Bagayogo M., Sangare D., Teuscher T. & Toure Y.T., *Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali*, Acta Tropica, 89, 147–159, (2004).
- Donnelly M.J., Isaacs A.T. & Weetman D., *Identification, Validation, and Application of Molecular Diagnostics for Insecticide Resistance in Malaria Vectors*, Trends in Parasitology, 32(3), 197–206, (2016).
- Doolan D.L., Dobaño C. & Baird J.K., *Acquired immunity to malaria*, Clinical Microbiology Reviews, 22(1), 13–36, (2009).
- Dossou-Yovo J., Doannio J., Riviere F. & Duval J., *Rice cultivation and malaria transmission in Bouake City (Cote-d'Ivoire)*, Acta Tropica, 57, 91–94, (1994).
- Drakeley C.J., Sutherland C., Bousema J.T., Sauerwein R.W. & Targett G.A., *The epidemiology of Plasmodium falciparum gametocytes: weapons of mass*, Trends Parasitology, 22, 424–430, (2006).
- Eisele T.P. & Steketee R.W., *African malaria control programs deliver ITNs and achieve what the clinical trials predicted*, PLoS medicine, 8(9), e1001088, (2011).
- Etang J. *Résistance aux insecticides chez Anopheles gambiae Giles, 1902 au Cameroun: mécanismes et perspectives opérationnelles.* (Thèse de Doctorat, University of Yaoundé I, 2003).
- Etang J., Chandre F., Guillet P. & Manga L., *Reduced bio-efficacy of permethrin EC impregnated bednets against an Anopheles gambiae strain with oxidase-based pyrethroid tolerance*, Malaria Journal, 3, 46, (2004).

- Etang J., Fondjo E., Chandre F., Morlais I., Brengues C., Nwane P., Chouaibou M., Ndjemai H. & Simard F., *First report of knockdown mutations in the malaria vector Anopheles gambiae from Cameroon*, The American journal of tropical medicine and hygiene, 74(5), 795–797, (2006).
- Etang J., Manga L., Toto J., Guillet P., Fondjo E. & Chandre F., *Spectrum of metabolic-based resistance to DDT and pyrethroids in Anopheles gambiae s.l populations from Cameroon*, Journal of Vector Ecology, 32(1), 123–133, (2007).
- Etang J., Mbida Mbida A., Ntonga Akono P., Binyang J., Eboumbou Moukoko C.E., Lehman L. G., Awono-Ambene P., Talipouo A., Ekoko Eyisab W., Tagne D., Tchoffo R., Manga L. & Mimpfoundi R., *Anopheles coluzzii larval habitat and insecticide resistance in the island area of Manoka, Cameroon*, BMC infectious diseases, 16, 217, (2016a).
- Etang J., Pennetier C., Piamou M., Bouraima A., Chandre F., Awono-Ambene P., Marc C. & Corbel V., *When intensity of deltamethrin resistance in Anopheles gambiae s.l. leads to loss of Long Lasting Insecticidal Nets bio-efficacy: a case study in north Cameroon*, Parasites & Vectors, 9, 132, (2016b).
- Fanello C., Santolamazza F. & Della T. A., *Simultaneous identification of species and molecular forms of the Anopheles gambiae complex by PCR-RFLP*, Medical and Veterinary Entomology, 16, 461–464, (2002).
- Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Sinden-Kiamos I. & Louis C., *Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of Anopheles gambiae ss*, Insect Molecular Biology, 10, 19–23, (2001).
- Favia G.A., Della T., Bagayoko M., Lanfrancotti A., Sagnon N.F., Touré Y.T. & Coluzzi M., *Molecular identification of sympatric chromosomal forms of Anopheles gambiae and further evidence of their reproductive isolation*, Insect Molecular Biology, 6, 377–383, (1997).
- Ffrench-Constant RH. *The Molecular Genetics of Insecticide Resistance*. Genetics 194, 807–815, (2013)

- Fillinger U., Sombroek H., Majambere S., van Loon, E., Takken, W., Lindsay, S.W., 2009. *Identifying the most productive breeding sites for malaria mosquitoes in The Gambia*. *Malaria Journal* 8, (2009).
- Finney D.J., *Probit analysis*, *Journal of the Institute of Actuaries* (1886-1994), 78(3), 388–90, (1952).
- Fondjo E., Bigoga J.D., Leke R.G.F., Patchoke S., Kollo B., Dao A., Golenda C., Wirtz R. A. & Quakyi I.A., *Malaria transmission in Far Northern Cameroon: characterization of anopheline species and the sporozoite infection rate*, *Journal of the Cameroon Academy of Sciences*, 2, 221S–226S, (2002).
- Fondjo E., *Etude Du Comportement Du Complexe Anopheles Gambiae Et De La Transmission Du Paludisme Dans Deux Faciès Éco-climatique Au Mali Et Au Cameroun* (Thèse de 3ème Cycle, Université de Bamako, 1996).
- Fondjo E., Robert V., Le Goff G., Toto J. & Carnevale P., *Urban malaria transmission in Yaounde (Cameroon). 2. Entomologic study in 2 semi urban districts*, *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 85, 57–63, (1992).
- Fornadel C.M., Norris L.C., Glass G.E., Norris D.E. *Analysis of Anopheles arabiensis blood feeding behaviour in southern Zambia during the two years after introduction of insecticide-treated bed nets*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 83:848-853, (2010)
- Fournier D. & Mutero A., *Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 108(1), 19–31, (1994).
- Frevert U., *Sneaking in through the back entrance: the biology of malaria liver stages*, *Trends in Parasitology*, 20(9), 417–424, (2004).
- Fru-Cho J., Bumah V. V., Safeukui I., Nkuo-Akenji T., Titanji V.P. & Haldar K., *Molecular typing reveals substantial Plasmodium vivax infection in asymptomatic adults in a rural area of Cameroon*, *Malaria Journal*, 13(1), 170, (2014).

- Garnham, P.C.C. *Malaria Parasites And Other Haemosporidia* (Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1966).
- Gautret P., Legros F., Koulmann P., Rodier M.H. & Jacquemin J.L., *Imported Plasmodium vivax malaria in France: geographical origin and report of an atypical case acquired in Central or Western Africa*, *Acta Tropica*, 78, 177–181, (2001).
- Gentile G., Della Torre A., Maegga B., Powell J.R. & Caccone A., *Genetic differentiation in the African malaria vector, Anopheles gambiae s.s., and the problem of taxonomic status*, *Genetics*, 161(4), 1561–1578, (2002).
- Gilles M.T. & de Meillon B., *The Anophelines of Africa, South of the Sahara*. South African Institute of Medical Research, 54, (1968).
- Gillies M & DeMeillon B., in *The Anophelinae of Africa South of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region)* (South African Medical Research Institute, Johannesburg, 1968).
- Gillies M.T. & Coetzee M., *A Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara*. (The South African Institute for Medical Research, 1987).
- Gillies M.T. & de Meillon B., *The Anophelinae of Africa South of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region)*. (The South African Institute for Medical Research, 1968).
- Gillies M.T., *The duration of the gonotrophic cycle in Anopheles gambiae and Anopheles funestus, with a note on the efficiency of hand catching*, *East African Medical Journal*, 30, 129–235, (1953).
- Githeko A.K., Service M.W., Mbogo C.M., Atieli F.K. & Juma F.O., *Origin of blood meals in indoor and outdoor resting malaria vectors in western Kenya*, *Acta Tropica*, 58, 307–316, (1994).
- Guillet P., Alnwick D., Cham M.K., Neira M., Zaim M., Heymann D. & Mukelabai K, *Long-lasting treated mosquito nets: a breakthrough in malaria prevention*, *Bulletin of the World Health Organization*, 79(10), 998, (2001).

- Hamon J., *Les moustiques anthropophiles de la région de Bobo-Dioulasso (République de Haute-Volta): cycles d'agressivité et variations saisonnières*, Annales de la Société entomologique de France, 132, 85–144, (1963).
- Hance P., Garnotel E., De Pina J., Vedy S., Ragot C., Chadli M. & Morillon M., *Tests immunochromatographiques rapides de détection du paludisme, principes et stratégies d'utilisation*, Medecine Tropicale, 65, 389–93, (2005).
- Harbach R.E., *The classification of genus Anopheles (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships*, Bulletin of Entomological Research, 94, 537–553, (2004).
- Harris A.F., Rajatileka S., Ranson H. *Pyrethroid Resistance in Aedes aegypti from Grand Cayman*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 83, 277, (2010).
- Hemingway J., Hawkes N.J., Mc Carroll L. & Ranson H., *The molecular basis of insecticides resistance in mosquitoes*, Insect Biochemistry and Molecular Biology, 34, 653–65, (2004).
- Hemingway J., Ranson H. *Insecticide resistance in insect vectors of human disease*. Ann Rev Entomol 45, (2000)
- Hervy J.F., Le Goff G., Geoffroy B., Herve J.P., Manga L. & Brunhes J., *Les Anophèles de la région afrotropicale*. (Paris, 1998).
- Hogh B., Marbiah N.T., Petersen E., Dolopaye E., Willcox M., Björkman A., Hanson A.P. & Gottschau A., *Classification of clinical falciparum malaria and its use for the evaluation of chemosuppression in children under six years of age in Liberia, west Africa*, Acta Tropica, 54(2), 105–115, (1993).
- Holstein M., *Un nouveau vecteur du paludisme en AOF: Anopheles rufipes Gough 1910*, Office de la Recherche Scientifique d'Outre-Mer, 379, 1, (1949).
- Hougaard J. M., Corbel V., N'Guessan R., Darriet F., Chandre F., Akogbéto M., Baldet T., Guillet P., Carnevale P. & Traoré-Lamizana M., *Efficacy of mosquito nets treated with insecticide mixtures or mosaics against insecticide resistant Anopheles gambiae and*

- Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Côte d'Ivoire, Bulletin of Entomological Research, 93(6), 491–498, (2003).
- IRMapper. <http://anopheles.irmapper.com/>, (2018)
- Ijumba J.N. & Lindsay S.W., *Impact of irrigation on malaria in Africa: paddies paradox*, Medical and Veterinary Entomology, 15(1), 1–11, (2001).
- INS/Cameroun & ICF. Enquête Démographique et de Santé et à Indicateurs Multiples (EDS-MICS) 2011. <http://dhsprogram.com/publications/publication-fr260-dhs-final-reports.cfm>.(2012).
- INS/Cameroun. Rapport MILDA 12 09 2013 - MILDA-Rapport. [online] <http://www.statistics-cameroon.org/downloads/MILDA/MILDA-Rapport-complet.pdf>
- Jelinek T., Kilian A., Henk M., Mughusu E., Nothdurft H., Löscher T., Knobloch J. & Sonnenburg F.v., Parasite-specific lactate dehydrogenase for the diagnosis of Plasmodium falciparum infection in an endemic area in West Uganda, Tropical Medicine & International Health, 1(2), 227–230, (1996).
- Joly A. & Giner M., Analyse de la dose létale 50 (DL50). Version 4.6. (1993).
- Jones C.M., Toé H.K., Sanou A., Namountougou M., Hughes A., Diabaté A., Diabaré R, Simard F. & Ranson H., Additional selection for insecticide resistance in urban malaria vectors: DDT resistance in Anopheles arabiensis from Bobo-Dioulasso Burkina Faso, PLoS One 7(9), e45995, (2012).
- Josse R., Jossieran R., Audibert M., Merlin M., Combe A., Sauneron M., Adjidji S., Mondet B., Le Hesran J. & Kouka-Bemba D., *Paludométrie et variations saisonnières du paludisme dans la région du projet rizicole de Maga (Nord-Cameroun) et dans la région limitrophe*, Cahiers-ORSTOM. Entomologie médicale et parasitologie, 25, 63–71, (1987).
- Julvez J., Mouchet J., Michault A., Fouta A. & Hamidine M., *Eco-epidemiology of malaria in Niamey and in the river valley, the Republic of Niger, 1992-1995*, Bulletin De La Société De Pathologie Exotique, 90(2), 94–100, (1997).

- Kasap M., *Seasonal variation in populations of Anopheles maculipennis, Anopheles claviger and Culex pipiens in Turkey*, Journal of the American Mosquito Control Association, 2(4), 478–481, (1986).
- Keiser J., Singer B.H. & Utzinger J., *Reducing the burden of malaria in different eco-epidemiological settings with environmental management: a systematic review*, The Lancet Infectious Diseases, 5, 695–708, (2005).
- Keiser J., Utzinger J., Caldas De Castro M., Smith T., Tanner M. & Singer B. *Urbanization in sub-saharan Africa and implication for malaria control*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 71, 118–127, (2004).
- Kibret S, McCartney M, Lautze J, & Jayasinghe G., *Malaria Transmission In The Vicinity Of Impounded Water: Evidence From The Koka Reservoir, Ethiopia* (IWMI, International Water Management Institute, Colombo, 2009).
- Kikuta Y., Ueda H., Nakayama K., Katsuda Y., Ozawa R., Takabayashi J., Hatanaka A. & Matsuda K., *Specific regulation of pyrethrin biosynthesis in Chrysanthemum cinerariaefolium by a blend of volatiles emitted from artificially damaged conspecific plants*, Plant & Cell Physiology, 52(3), 588–596, (2011).
- Killeen G., *Characterizing, controlling and eliminating residual malaria transmission*, Malaria Journal, 13, (2014).
- Killeen G.F., McKenzie F.E., Foy B.D., Bogh C. & Beier J.C., *The availability of potential hosts as a determinant of feeding behaviours and malaria transmission by African mosquito populations*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 95, 469–476, (2001).
- Killeen G.F., McKenzie F.E., Foy B.D., Schieffelin C., Billingsley P.F. & Beier J.C., *A simplified model for predicting malaria entomological inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 62(5), 535–44, (2000).

- Killeen G.F., Smith T.A., Ferguson H.M., Mshinda H., Abdulla S., Lengeler C. & Kachur S.P., *Preventing childhood malaria in Africa by protecting adults from mosquitoes with insecticide-treated nets*, PLOS Medicine, 4, e229, (2007).
- Killeen G.F., Fillinger U., Knols B.G. *Advantages of larval control for African malaria vectors: Low mobility and behavioral responsiveness of immature mosquito stages allow high effective coverage*. Malaria Journal 1 (2002).
- Kimbi H.K., Awah N.W., Ndamukong K.N.J. & Mbuh J.V., *Malaria infection and its consequences in school children*, East African Medical Journal, 82, 93–98, (2005).
- Klinkenberg E., McCall P.J., Hastings I.M., Wilson M.D., Amerasinghe F.P. & Donnelly M.J. *Malaria and Irrigated Crops, Accra, Ghana*, Emerging Infectious Diseases, 11(8), 1290–1293, (2005).
- Klinkenberg E., Takken W., Huibers F. & Toure Y.T. *The phenology of malaria mosquitoes in irrigated rice fields in Mali*, Acta tropica, 85, 71–82, (2003).
- Knight K.L. & Stone A., *A Catalog Of The Mosquitoes Of The World (Diptera, Culicidae)* (Thomas Say Foundation, Washington, 1977).
- Knols, Prevention and Management of Insecticide Resistance in Vectors of Public Health Importance. http://www.irc-online.org/content/uploads/VM_mini-brochure_v1_French.pdf.(2011)
- Knox T.B., Juma E.O., Ochomo E.O., Pates Jamet H., Ndungo L., Chege P., Bayoh N. M., N’Guessan R., Christian R.N., Hunt R.H. & Coetzee M., *An online tool for mapping insecticide resistance in major Anopheles vectors of human malaria parasites and review of resistance status for the Afrotropical region*, Parasites & Vectors, 7, 76, (2014).
- Koudou B.G., Tano Y., Doumbia M., Nsanzabana C., Cissé G., Girardin O., Dao D., N’Goran E.K., Vounatsou P., Bordmann G., Keiser J., Tanner M. & Utzinger J., *Malaria transmission dynamics in central Côte d’Ivoire: the influence of changing patterns of irrigated rice agriculture*, Medical and Veterinary Entomology, 19(1), 27–37, (2005).

- Kristan M., Lines J., Nuwa A., Ntege C., Meek S.R. & Abeku T.A., *Exposure to deltamethrin affects development of Plasmodium falciparum inside wild pyrethroid resistant Anopheles gambiae s.s. mosquitoes in Uganda*, Parasites & Vectors, 9, 100, (2016).
- Kumar S., Christophides G.K., Cantera R., Charles B., Han Y.S., Meister S., Dimopoulos G., Kafatos F.C. & Barillas-Mury C., *The role of reactive oxygen species on Plasmodium melanotic encapsulation in Anopheles gambiae*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 100(24), 14139–14144, (2003).
- Lapied B., Pennetier C., Apaire-Marchais V., Licznar P. & Corbel V., *Innovative applications for insect viruses: towards insecticide sensitization*, Trends in Biotechnology, 27(4), 190–198, (2009).
- Lardeux F., Loayza P., Bouchite B. & Chavez, T., *Host choice and human blood index of Anopheles pseudopunctipennis in a village of the Andean valleys of Bolivia*, Malaria Journal, 6, 6–8, (2007).
- Lecamus J.L. & Raphenon G., *Diagnosis of malaria in the field by fluorescence microscopy using QBC capillary tubes*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 86(1), 3–5, (1992).
- Lehmann T. & Diabate A., *The molecular forms of Anopheles gambiae: A phenotypic perspective*, Infection, Genetics and Evolution, 8, 737–746, (2008).
- Lengeler C., *Insecticide-treated bednets and curtains for preventing malaria (Review)*, The Cochrane Database of Systematic Reviews, 2, CD000363, (2004).
- Linss J.G.B., Brito L.P., Garcia G.A., Araki A.S., Bruno R.V., Lima J.B.P., Valle, D., Martins A.J. *Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in Aedes aegypti Brazilian natural populations*. Parasite & Vectors 7, 25, (2014).
- Lockwood J.A., Sparks T.C., Story R.N., 1984. *Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior*. Bulletin of the Entomological Society of America. 30:41-51, (1984).

- Luxemburger C., Ricci F., Nosten F., Raimond D., Bathet S. & White N.J., *The epidemiology of severe malaria in an area of low transmission in Thailand*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 91(3), 256–262, (1997).
- Lyimo I.N. & Ferguson H.M., *Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors*, Trends in Parasitology, 25(4), 189–196, (2009).
- Mabaso M.L.H., Sharp B., Lengeler C., 2004. *Historical review of malarial control in southern African with emphasis on the use of indoor residual house-spraying*. Tropical Medicine & International Health 9, 846–856, (2004).
- MacDonald G., *The epidemiology and control of malaria*. (Oxford University Press, 1957).
- Makler M.T., Palmer C.J. & Ager A.L., *A review of practical techniques for the diagnosis of malaria*, Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 92(4), 419–433, (1998).
- Manga L., Robert V., Messi J., Desfontaines M. & Carnevale P., *Le paludisme urbain à Yaoundé, Cameroun. I- Etude entomologique dans deux quartiers centraux*, Mémoires de la Société Royale d'Entomologie de Belgique, 85(1), 57–63, (1992).
- Mangoni E.D., Severini C., Menegon M., Romi R., Ruggiero G. & Majori G., *Case Report: An unusual late relapse of Plasmodium vivax malaria*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 62, 159–60, (2003).
- Martinez-Torres D., Chandre F., Williamson M. S., Darriet F., Berge J.B., Devonshire A. L., Guillet P., Pasteur N. & Pauron D., *Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector Anopheles gambiae s.s.*, Insect Molecular Biology, 7, 179–184, (1998).
- Mbida Mbida A., Etang J., Akono Ntonga P., Eboumbou Moukoko C., Awono-Ambene P., Tagne D., Talipouo A., Ekoko W., Binyang J., Tchoffo R., Lehman G. & Mimpfoundi R., [New insight into Anopheles coluzzii Coetzee & Wilkerson, 2013 larval ecology in the Wouri estuary, Littoral-Cameroon]. Bulletin De La Societe De Pathologie Exotique, 110(2), 92-101, (2016).

- McCarroll L. & Hemingway J., *Can insecticide resistance status affect parasite transmission in mosquitoes?* *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(10), 1345–1351, (2002).
- Mehlotra R.K., Lorry K., Kastens W., Miller S.M., Alpers M.P., Bockarie M., Kazura J. W. & Zimmerman P.A., *Random distribution of mixed species malaria infections in Papua New Guinea*, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(2), 225–231, (2000).
- Ménard D., Barnadas C., Bouchier C., Henry-Halldin C., Gray L.R., Ratsimbaoa A., Thonier V., Carod J.F., Domarle O., Colin Y., Bertrand O., Picot J., King C.L., Grimberg B.T., Mercereau-Puijalon O. & Zimmerman P.A., *Plasmodium vivax clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(13), 5967–5971, (2010).
- Mendes C., Dias F., Figueiredo J., Mora V.G., Cano J., de Sousa B., do Rosário V.E., Benito A., Berzosa P. & Arez A. P., *Duffy negative antigen is no longer a barrier to Plasmodium vivax-molecular evidences from the African West Coast (Angola and Equatorial Guinea)*, *PLoS neglected tropical diseases*, 5(6), e1192, (2011).
- Menze B.D., Riveron J.M., Ibrahim S.S., Irving H., Antonio-Nkondjio C., Awono-Ambene P.H., Wondji, C.S. *Multiple Insecticide Resistance in the Malaria Vector Anopheles funestus from Northern Cameroon Is Mediated by Metabolic Resistance Alongside Potential Target Site Insensitivity Mutations*. *PloS One*, 11, (2016).
- Midega J.T., Smith D.L., Olotu A., Mwangangi J.M., Nzovu J.G., Wambua J., Nyangweso G., Mbogo C.M., Christophides G.K., Marsh K. & Bejon P., *Wind direction and proximity to larval sites determines malaria risk in Kilifi District in Kenya*, *Nature Communications*, 3, 674, (2012).
- Miller R.L., Ikram S., Armelagos G. J., Walker R., Harer W.B., Shiff C.J., Baggett D., Carrigan M. & Maret S.M., *Diagnosis of Plasmodium falciparum infections in mummies using the rapid manual ParaSight-F test*, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(1), 31–32, (1994).
- Ministry of Public Health, Cameroon. *National Malaria Control Programme Report*, (2015).

- Ministry of Public Health, Cameroon. *National Malaria Control Programme Report*, (2011).
- Ministry of Public Health, Cameroon. *National Malaria Control Programme Report*, (2009).
- Ministry of Public Health, Cameroon. *National Malaria Control Programme Report*, (2013).
- Moignot B., Lemaire C., Quinchard S., Lapied B. & Legros C., *The discovery of a novel sodium channel in the cockroach *Periplaneta americana*: evidence for an early duplication of the para-like gene*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(11), 814–823, (2009).
- Moiroux N., Gomez M.B., Penetier C., Elanga E., Djenontin A., Chandre F. *Changes in *Anopheles funestus* biting behaviour following universal coverage of long-lasting insecticidal nets in Benin*. *Journal of Infectious Diseases* 206:1622-1629, (2012).
- Molineaux L., Gramiccia, G. *The Garki Project. Research on the epidemiology and control of malaria in the Sudan Savanna of West Africa*. World Health Organization, Geneva, (1980).
- Molyneux D., *Vectors. Modern Parasitology: A Textbook of Parasitology*, Second Edition, (1994).
- Morgan E.T., *Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection*, *Drug Metabolism Reviews*, 29(4), 1129–1188, (1997).
- Morlais I., Ponçon N., Simard F., Cohuet A. & Fontenille D., *Intraspecific nucleotide variation in *Anopheles gambiae*: new insights into the biology of malaria vectors*, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71(6), 795–802, (2004).
- Mota M.M., Pradel G., Vanderberg J.P., Hafalla J.C., Frevert U., Nussenzweig R.S., Nussenzweig V. & Rodríguez A., *Migration of *Plasmodium* sporozoites through cells before infection*, *Science*, 291(5501), 141–144, (2001).
- Mouchet J., Carnevale P., Coosemans M., Fontenille D., Ravaonjanahary C., Richard A. & Robert V., *Typologie du paludisme en Afrique*, *Cahiers Sante* 3, 220–238, (1993).

- Mouchet J., Carnevale P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Richard-Lenoble D. & Sircoulon J., *Biodiversité du paludisme dans le monde*. (John Libbey Eurotext, Montrouge, France, 2004).
- Mouchet J., *Influence des fleuves sur la biologie d'Anopheles gambiae pendant la saison sèche dans le Sud-Cameroun*, Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 55(6), 1163–1171, (1962).
- Mueller I., Zimmerman P.A. & Reeder J. C., *Plasmodium malariae and Plasmodium ovale—the 'bashful' malaria parasites*, Trends in parasitology, 23(6), 278–283, (2007).
- N'Guessan R., Corbel V., Akogbeto M. & Rowland M., *Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin*, Emerging Infectious Diseases journal, 13(2), 199–206, (2007).
- Nauen R., *Insecticide mode of action: return of the ryanodine receptor*, Pest management Science, 62(8), 690–692, (2006).
- Ngassa Mbenda H.G. & Das A., *Molecular Evidence of Plasmodium vivax Mono and Mixed Malaria Parasite Infections in Duffy-Negative Native Cameroonians*, PLOS ONE, 9(8), e103262, (2014).
- Njiru B.N., Mukabana W.R., Takken W. & Knols B.G.J., *Trapping of the malaria vector Anopheles gambiae with odour-baited MM-X traps in semi-field conditions in western Kenya*, Malaria Journal, 5, 39, (2006).
- Nwane P., Etang J., Chouaibou M., Toto J., Koffi A., Mimpfoundi R. & Simard F., *Multiple insecticide resistance mechanisms in Anopheles gambiae s.l. populations from Cameroon, Central Africa*, Parasites & Vectors, 6(1), 41, (2013).
- Ochomo E.O., Bayoh N.M., Walker E.D., Abongo B.O., Ombok M.O., Ouma C., Githeko A.K., Vulule J., Yan G. & Gimnig J.E., *The efficacy of long-lasting nets with declining physical integrity may be compromised in areas with high levels of pyrethroid resistance*, Malaria Journal, 12, 368, (2013).
- Olaleye B., Williams L., D'alessandro U., Weber M., Mulholland K., Okorie C., Langerock P., Bennett S. & Greenwood B., *Clinical predictors of malaria in Gambian children with*

- fever or a history of fever*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 92(3), 300–304, (1998).
- OMS. Terminologie du paludisme et de l'éradication du paludisme, (1964).
- Overgaard H.J. & Angstreich M.G., WHO promotes DDT?, The Lancet. Infectious Diseases, 7(10), 632–633, (2007).
- Pates H. & Curtis C., *Mosquito behaviour and vector control*, Annual Review of Entomology, 50, 53–70, (2005).
- Plowe C.V., Djimde A., Bouare M., Doumbo O. & Wellems T.E., *Pyrimethamine and Proguanil resistance conferring mutation in Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase: polymerase chain reaction methods for surveillance in Africa*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 52, 565–568, (1995).
- Poupardin R., Riaz M.A., Jones C.M., Chandor-Proust A., Reynaud S. & David J.P., *Do pollutants affect insecticide-driven gene selection in mosquitoes? Experimental evidence from transcriptomics*, Aquatic Toxicology, 114, 49–57, (2012).
- Powell J.R., Petrarca, V., della Torre, A., Caccone, A., Coluzzi, M. *Population structure, speciation, and introgression in the Anopheles gambiae complex*. Parassitologia 41, 101–113, (1999).
- Protopopoff N., Mosha J.F., Lukole E., Charlwood J.D., Wright A., Mwalimu C.D., Manjurano, A., Mosha F.W., Kisinza W., Kleinschmidt I., Rowland, M. *Effectiveness of a long-lasting piperonyl butoxide-treated insecticidal net and indoor residual spray interventions, separately and together, against malaria transmitted by pyrethroid-resistant mosquitoes: a cluster, randomised controlled, two-by-two factorial design trial*. Lancet Lond. Engl. 391, 1577–1588, (2018)
- Quakyi I.A., Leke R.G., Befidi-Mengue R., Tsafack M., Bomba-Nkolo D., Manga L., Tchinda V., Njeungue E., Kouontchou S., Fogako J., Nyonglema P., Harun L.T., Djokam R., Sama G., Eno A., Megnekou R., Metenou S., Ndountse L., Same-Ekobo A., Alake G., Meli J., Ngu J., Tietche F., Lohoue J., Mvondo J.L., Wansi E., Leke R., Folefack A., Bigoga J., Bomba-Nkolo C., Titanji V., Walker-Abbey A., Hickey M.A., Johnson A.H.

- & Taylor D.W., *The epidemiology of Plasmodium falciparum malaria in two Cameroonian villages: Simbok and Etoa*, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 63(5–6), 222–30, (2000).
- Ranson H., Abdallah H., Badolo A., Guelbeogo W.M., Kera-Hinzoumbe C. & Yangelbe-Kalnone, E., *Insecticide resistance in Anopheles gambiae: data from the first year of a multi-country study highlight the extent of the problem*, *Malaria Journal*, 8(1), 299, (2009).
- Ranson H., Jensen B., Vulvule J.M., Wang X., Hemingway J. & Collins F.H., *Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan Anopheles gambiae associated with resistance to DDT and pyrethroids*, *Insect molecular biology*, 9, 491–497, (2000).
- Ranson H., N’Guessan R., Lines J., Moiroux N., Nkuni Z. & Corbel V., *Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: What are the implications for malaria control?*, *Trends Parasitology*, 27(2), 91–8, (2011).
- Raymond-Delpech V., Matsuda K., Sattelle B.M., Rauh J.J. & Sattelle D.B., *Ion channels: molecular targets of neuroactive insecticides*, *Invertebrate neuroscience*, 5(3–4), 119–133, (2005).
- Reddy M., Overgaard H.J., Abaga S., Reddy V.P., Caccone A., Kiszewski A.E., Slotman M.A. *Outdoor host seeking behaviour of Anopheles gambiae mosquitoes following initiation of malaria vector control on Bioko Island, Equatorial Guinea*. *Malaria. Journal* 10:184 (2011)
- Rey A, Tomi M, Horde T, & Tanet C., *Observance. Dictionnaire Historique De La Langue Française, Sous La Direction D’Alain Rey*, (1994).
- Riaz M.A., Poupardin R., Reynaud S., Strode C., Ranson H. & David J.P., *Impact of glyphosate and benzo [a] pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics*, *Aquatic Toxicology*, 93(1), 61–69, (2009).

- Richie T., *Interactions between malaria parasites infecting the same vertebrate host*, Parasitology, 96(3), 607–639, (1988).
- Riveron J.M., Yunta C., Ibrahim S.S., Djouaka R., Irving H., Menze B.D., Ismail H.M., Hemingway J., Ranson H., Albert A., Wondji C.S. A single mutation in the GSTe2 gene allows tracking of metabolically based insecticide resistance in a major malaria vector. Genome Biology. 15, R27, (2014).
- Robert V. & Carnevale P., *Les vecteurs des paludismes en Afrique subsaharienne*, Etudes médicales, 2, 79–90, (1984).
- Robert V., Broek A., Stevens P., Slootweg R., Petrarca V., Coluzzi M., Le Goff G., Di Deco M.A. & Carnevale P., *Mosquitoes and malaria transmission in irrigated rice-fields in the Benoue valley of northern Cameroon*, Acta Tropica, 52, 201–204, (1992).
- Robert V., Gazin P. & Carnevale P., *De la difficulté de prévoir les répercussions sanitaires des aménagements hydroagricoles: le cas du paludisme dans la rizière de la vallée du Kou au Burkina Faso*. (Le risque en agriculture, Paris, ORSTOM, 1989a).
- Robert V., Macintyre K., Keating J., Trape J., Duchemin J., Warren M. & Beier J., *Malaria transmission in urban sub-saharan Africa*, The American journal of tropical medicine and hygiene, 68(2), 169–176, (2003).
- Robert V., Ouari B., Ouedraogo V. & Carnevale P., *Etude écologique des Culicidae adultes et larvaires dans une rivière en vallée du Kou, Burkina Faso*, Acta tropica, 45(4), 351–359, (1988).
- Robert V., Ouedraogo V. & Carnevale P., *La transmission du paludisme humain dans un village au centre de la rizière de la vallée du Kou, Burkina Faso*, Le paludisme en Afrique de l'Ouest, 1, 5–15, (1991).
- Robert V., Petrarca V., Carnevale P., Ovazza L. & Coluzzi M., *Analyse cytogenétique du complexe Anopheles gambiae dans la région de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso*, Annales De Parasitologie Humaine et Comparee, 64, 290–311, (1989b).
- Rodriguez M.H. & de la C Hernández-Hernández F., *Insect–malaria parasites interactions: the salivary gland*, Insect biochemistry and molecular biology, 34(7), 615–624, (2004).

- Rogier C., Commenges D. & Trape J.F., *Evidence for an age-dependent pyrogenic threshold of Plasmodium falciparum parasitemia in highly endemic populations*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 54, 613–619, (1996).
- Rubio J., Benito A., Berzosa P., Roche J., Puente S., Subirats M., Lopez-Velez R., Garcia L. & Alvar J., Usefulness of seminested multiplex PCR in surveillance of imported malaria in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10), 3260–3264, (1999).
- Russell T.L., Govella N.J., Azizi S., Drakeley C.J., Kachur S.P., Killeen G.F. *Increased proportions of outdoor feeding among residual malaria vector populations following increased use of insecticide-treated nets in rural Tanzania*. *Malaria Journal*. 10, 80, (2011)
- Ryan J.R., Stoute J.A., Amon J., Dunton R.F., Mtalib R., Koros J., Owour B., Luckhart S., Wirtz R. A., Barnwell J. W. & Rosenberg R., *Evidence for transmission of Plasmodium vivax among a duffy antigen negative population in Western Kenya*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 75(4), 575–581, (2006).
- SAM. *Anopheles gambiae*. *Scientists Against Malaria*.
<http://www.scientistsagainstmalaria.net/vector/anopheles-gambiae>. (2014).
- Sambrook J, Fritsch EF, & Maniatis T. *Molecular Cloning*, (Cold spring harbor laboratory press New York, 1989).
- Santolamazza F., Calzetta M., Etang J., Barrese E., Dia I., Caccone A., Donnelly M.J., Petrarca V., Simard F., Pinto J. & della Torre A., *Distribution of knock-down resistance mutations in Anopheles gambiae molecular forms in west and west-central Africa*, *Malaria Journal*, 7, 74, (2008).
- Santolamazza F., Mancini E., Simard F., Qi Y., Tu Z., della Torre A. *Insertion polymorphisms of SINE200 retrotransposons within speciation islands of Anopheles gambiae molecular forms*. *Malaria Journal* 7, (2008).
- Sarpong N., Owusu-Dabo E., Kreuels B., Fobil J.N., Segbaya S., Amoyaw F., Hahn A., Kruppa T. & May J., *Prevalence of malaria parasitaemia in school children from two districts*

- of Ghana earmarked for indoor residual spraying: a cross-sectional study*, Malaria journal, 14(1), 1, (2015).
- Scott J.A., Brogdon W.G. & Collins F.H., *Identification of single species of the Anopheles gambiae complex by the polymerase chain reaction*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 49, 520–529, (1993).
- Service M.W.A., *Critical review of procedures for sampling populations of adult mosquitoes*, Bulletin of Entomological Research, 67, 343–382, (1977).
- Service M., *Effects of wind on the behaviour and distribution of mosquitoes and blackflies*, International Journal of Biometeorology, 24, 347–353, (1980).
- Service M., *Medical Entomology For Students* (Cambridge University Press, Liverpool, 2012).
- Shafer T.J., Meyer D.A. & Crofton K.M., *Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: critical review and future research needs*, Environmental health perspectives, 113, 123–136, (2005).
- Sharp B.L. & Sueur D.L., *Behavioural variation of Anopheles arabiensis (Diptera: Culicidae) populations in Natal, South Africa*, Bulletin of Entomological Research 81, 107–110, (1991).
- Simard F., Ayala D., Kamdem G., Pombi M., Etouna J., Ose K., Fotsing J., Fontenille D., Besansky N. & Costantini C., *Ecological niche partitioning between Anopheles gambiae molecular forms in Cameroon: the ecological side of speciation*, BMC Ecology, 9, 17, (2009).
- Singh B., Lee K.S., Matusop A., Radhakrishnan A., Shamsul S.S.G., Cox-Singh J., Thomas A. & Conway D.J., *A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings*, Lancet 363, 1017–1024, (2004).
- Smith T., Charlwood J., Kitua A., Masanja H., Mwankusye S., Alonso P. & Tanner, M., *Relationships of malaria morbidity with exposure to Plasmodium falciparum in young children in a highly endemic area*, The American journal of tropical medicine and hygiene, 59(2), 252–257, (1998).

- Smith T., Genton B., Baea K., Gibson N., Narara A. & Alpers M., *Prospective risk of morbidity in relation to malaria infection in an area of high endemicity of multiple species of Plasmodium*, *The American journal of tropical medicine and hygiene* 64(5), 262–267, (2001).
- Snounou G., Viriyakosol S., Zhu X.P., Jarra W., Pinheiro L., do Rosario V.E., Thaithong S. & Brown K.N., *High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction*, *Molecular and Biochemical Parasitology*, 61, 315–320, (1993).
- Snow R.W., Bradley A.K., Hayes R., Byass P. & Greenwood B.M., *Does woodsmoke protect against malaria?*, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 81(4), 449–451, (1987).
- Snow R.W., Guerra C.A., Noor A.M., Myint H.Y. & Hay S.I., *The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria*, *Nature*, 434, 214–7, (2005).
- Soderlund DM & Bloomquist JR., in *Pesticide resistance in arthropods* 58–96 (Springer, 1990).
- Sokhna C., Ndiath M.O., Rogier C. *The changes in mosquito vector behaviour and the emerging resistance to insecticides will challenge the decline of malaria*. *Clinical Microbiology and Infection*. 19, 902–907, (2013).
- Tabue R.N., Nem T., Atangana J., Bigoga J.D., Patchoke S., Tchouine F., Fodjo B.Y., Leke R.G.F. & Fondjo E., *Anopheles ziemanni a locally important malaria vector in Ndop health district, north west region of Cameroon*, *Parasites & Vectors*, 7, 262, (2014).
- Taylor C.E. & Georghiou G.P., *Suppression of insecticide resistance by alteration of gene dominance and migration*, *Journal of economic entomology*, 72(1), 105–109, (1979).
- Taylor L. & Read A., *Why so few transmission stages? Reproductive restraint by malaria parasites*, *Parasitology Today*, 13(4), 135–140, (1997).
- Tene-Fossog B., Poupardin R., Costantini C., Awono-Ambene H., Wondji C., Ranson H. *Resistance to DDT in an urban setting: Common mechanisms implicated in both M and S forms of Anopheles gambiae in the city of Yaoundé Cameroon*. *PLoS One*, 8, (2013).

- Tesh R.B., Chen W.R. & Catuccio D., *Survival of albumin, IgG, IgM, and complement (C3) in human blood after ingestion by Aedes albopictus and Phlebotomus papatasi*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 39(1), 127–130, (1988).
- Trape J.F., Peelman P. & Morault-Peelman B., *Criteria for diagnosing clinical malaria among a semi-immune population exposed to intense and perennial transmission*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 79(4),435-42, (1985).
- UNICEF. UNICEF_Humanitarian_Action_Update_Sahel.
http://www.unicef.org/hac2012/files/UNICEF_Humanitarian_Action_Update_-_Sahel_crisis_-_6_February_2012.pdf. (2012).
- Viana M., Hughes A., Matthiopoulos J., Ranson H. & Ferguson H.M., *Delayed mortality effects cut the malaria transmission potential of insecticide-resistant mosquitoes*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113(32), 8975–8980, (2016).
- Vien N.T., Carnevale P., Robert V. & Darriet F., *Evaluation of the efficacy of permethrin impregnated intact and perforated mosquito nets against vectors of malaria*, WHO mimeographed document WHO/VBC 84, 20, (1984).
- Wang L. *Functional and pharmacological analysis of insect sodium channels in xenopus oocytes*. Michigan State University. Entomology, (2013).
- Weill M., Lutfalla G., Mogensen K., Chandre F., Berthomieu A., Berticat C. *Comparative genomics: insecticide resistance in mosquito vectors*. Nature 423, (2003)
- White N.J., *Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite*, Clinical infectious diseases, 46, 172–173, (2008)
- WHO. Division of Malaria and other Parasitic Diseases. in *Division of Malaria and other Parasitic Diseases*, (1995).
- WHO. Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors.
<http://www.who.int/malaria/publications/atoz/gpirm/en/>, (2012).

- WHO. *The Global Malaria Action Plan* (Roll Back Malaria Partnership Secretariat, Geneva, Switzerland, 2008).
- WHO. World Malaria Report 2013. World Health Organization, (2013).
- WHO. World Malaria Report 2016. World Health Organization, (2016).
- WHO. *Severe falciparum malaria*, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 94, 1–90, (2000).
- WHO. Conditions for deployment of mosquito nets treated with a pyrethroid and piperonyl butoxide. World Health Organization, Geneva; 2017
- Wilkes T.J. Matola Y.G. & Charlwood J.D., *Anopheles rivulorum*, a vector of human malaria in Africa, Medical and Veterinary Entomology, 10, 108, (1996).
- Wirtz R., Zavala F., Charoenvit Y., Campbell G., Burkot T., Schneider I., Esser K., Beaudoin R. & Andre R., *Comparative testing of monoclonal antibodies against Plasmodium falciparum sporozoites for ELISA development*, Bulletin of the World Health Organization, 65, 39–45, (1987).
- Wondji C.S., Frédéric S., Petrarca V., Etang J., Santolamazza F., dellaTorre A.D. & Fontenille D., *Species and populations of the Anopheles gambiae complex in Cameroon with special emphasis on chromosomal and molecular forms of Anopheles gambiae s.s.*, Journal of Medical Entomology, 42(6), 998–1005, (2005).
- Wondji C.S., Dabire R.K., Tukur Z., Irving H., Djouaka R., Morgan, J.C. *Identification and distribution of a GABA receptor mutation conferring dieltrin resistance in the malaria vector Anopheles funestus in Africa*. Insect Biochemistry and Molecular Biology. 41, 484–491, (2011).
- Wondji C.S., Hunt R.H., Pignatelli P., Steen K., Coetzee M., Besansky N., Lobo N., Collins F.H., Hemingway J., Ranson H. *An Integrated Genetic and Physical Map for the Malaria Vector Anopheles funestus*. Genetics 171, 1779–1787, (2005).

- Wondji C., Simard F., Fontenille D. *Evidence for genetic differentiation between the molecular forms M and S within the Forest chromosomal form of Anopheles gambiae in an area of sympatry*. *Insect Mol Biol* 11, 11–9, (2002).
- Woolhouse M., *Patterns in parasite epidemiology: the peak shift*, *Parasitology today*, 14(10), 428–434, (1998).
- Wurtz N., Lekweiry K.M., Bogreau H., Pradines B., Rogier C., Boukhary A.O.M.S., Hafid J.E., Salem M.S.O.A., Trape J.F., Basco L.K. & Briolant S., *Vivax malaria in Mauritania includes infection of a Duffy-negative individual*, *Malaria Journal*, 10, 336, (2011).
- Yadouleton A., Asidi A., Djouaka R., Braima J., Agossou C. & Akogbeto M., *Development of vegetable farming: a cause of the emergence of insecticide resistance in populations of Anopheles gambiae in urban areas of Benin*, *Malaria Journal*, 8, 103, (2009).
- Yewhalaw D., Legesse W., Van Bortel W., Gebre-Selassie S., Kloos H., Duchateau L. & Speybroeck N., *Malaria and water resource development: the case of Gilgel-Gibe hydroelectric dam in Ethiopia*, *Malaria Journal*, 8, 21, (2009).
- Zaim M., Aitio A. & Nakashima N., *Safety of pyrethroid-treated mosquito nets*, *Medical and veterinary entomology*, 14(1), 1–5, (2000).

LISTE DES PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE

Ce travail de recherche a déjà conduit à la rédaction de 02 articles scientifiques dont 01 déjà publié et 01 autre en cours de publication.

➤ **Déjà publié**

Tabue RN, Awono-Ambene P, Etang J, Atangana J, Antonio-Nkondjio C, Toto JC, Patchoke S, Leke RGF, Fondjo E, Mnzava AP, Knox TB, Tougordi A, Donnelly MJ, Bigoga JD. Role of *Anopheles (Cellia) rufipes* (Gough, 1910) and other local anophelines in human malaria transmission in the northern savannah of Cameroon: a cross-sectional survey. *Parasites & Vectors* (2017) 10:22

➤ **En cours de publication**

Tabue RN, Awono-Ambene P, Etang J, Atangana J, Antonio-Nkondjio C, Toto JC, Patchoke S, Leke RGF, Fondjo E, Mnzava AP, Knox TB, Donnelly MJ, Bigoga JD. Malaria attributable proportion of fever and establishment of malaria case definition in children of the northern region of Cameroon. *In press*