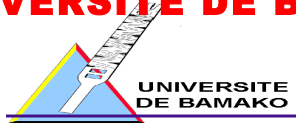


**Ministère de l'Enseignement
République du Mali
Supérieur et de la Recherche
Scientifique**

Un Peuple – Un But – Une Foi

UNIVERSITÉ DE BAMAKO



FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO – STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2010-2011

N°...../

TITRE

**TEST D'EFFICACITE DE LA K-OTHRINE ET
DU FICAM EN PULVERISATION
INTRA-DOMICILIAIRE DANS LA LUTTE CONTRE
LE VECTEUR DU PALUDISME.**

**Présentée et soutenue publiquement le .../.../2011 devant
la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie**

Par :

M. Chaka Ousmane COULIBALY

**Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie
(DIPLOME D'ETAT)**

Jury

Président:

Pr.Sékou Fantamady TRAORE

Membres:

Pr.Guimogo DOLO

Dr.Sitan TRAORE

Dr.Halidou SIDIBE

Directeur de thèse:

Pr.Ousmane KOITA

Ce travail est réalisé au LBMA et a reçu l'appui financier de Bayer Environmental Science

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, le Maître des destins de m'avoir guidé et surtout assisté tout au long de mes études jusqu'à l'aboutissement de ce document.

Qu'il raffermirait d'avantage mes pas pour le reste de mon existence.

Amen !

A ma mère Kafougoutio BERTHE

Femme rurale, femme des champs, Maman, il n'y a pas de mot pour vraiment exprimer ta place tant immense. Tu as été toujours là pour nous, même quand ce n'était pas nécessaire. Une fois de plus les mots me manquent pour montrer mes sentiments envers toi. Tu as partagé avec moi les souffrances, Allah seul est capable de te rembourser cette dette inestimable. Saches que tu es la meilleure et soit simplement heureuse, tu le mérites après tant de sacrifices. Reçois à travers ce modeste travail le témoignage de toute mon affection et de mon profond respect.

Que DIEU le Tout Puissant te garde encore très longtemps auprès de nous. Amen !

Je t'aime maman !

REMERCIEMENTS

Il me tient à cœur de remercier très sincèrement toutes les personnes de bonne volonté qui de près ou de loin ont contribué tant soit peu à la réalisation de ce travail. Cependant je ne saurais jamais énumérer de façon exhaustive les parents, les amis, les collaborateurs et les maîtres qui m'ont apporté leurs soutiens moraux, matériels et scientifiques tout au long de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude !

A mon père Ousmane COULIBALY

En souvenir des moments passés à tes côtés et de ton souci de faire de nous des hommes préparés pour la vie. Tu as toujours été soucieux de l'avenir de toute la famille. Ce travail est un modeste témoignage de tous les sacrifices que tu as consenti. Que Dieu le tout puissant puisse te garder encore longtemps parmi nous.

A ma Tante Gnellé BERTHE

Très chère tante, je ne cesserai jamais de te remercier pour ta sagesse, ton honnêteté et ta grande générosité. Tu as été une mère pour moi, merci pour tous les sacrifices consentis à mon éducation et pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Que DIEU te prête une longue vie pour que tu puisses partager avec moi le fruit de ce travail.

A mon oncle Souleymane BERTHE et famille à Lofiné

J'ai beaucoup bénéficié de votre générosité, de vos conseils. J'ai admiré en vous votre patience. Vous avez fait de moi un membre intégrant de votre famille et j'en suis fier.

Que ce travail soit pour moi l'occasion de vous faire part de ma profonde reconnaissance et mon souhait ardent de renforcer ces liens ainsi tissés. Qu'Allah t'apporte la santé, le bonheur et la longévité.

A ma marâtre Sitan COULIBALY

Merci pour ton amour et tous les sacrifices consentis pour moi depuis mon enfance.

A mes frères Siaka BERTHE et Abdoulaye BERTHE

Si j'en suis là aujourd'hui, c'est en partie grâce à vous. Je me rappelle encore que c'est devant votre insistance que mes parents ont décidé de m'inscrire à l'école. Je ne s'aurai vous remercié assez. Les mots me manquent pour vous témoigner mon amour et ma reconnaissance. Ce travail est entièrement le vôtre. Que Dieu le tout puissant vous accorde une longue vie avec beaucoup de chance.

A notre belle sœur Batoma DIARRA

Tu as été plus qu'une belle sœur pour nous, grâce à toi et au bon Dieu, j'ai pu m'habituer à la vie de Bamako et étudier à Bamako sans grande difficulté. Toi qui as été au début, pendant et à la fin de cette thèse, que ce travail soit pour toi un motif de réconfort.

A la famille SANOGO à Kadiolo

J'ai trouvé chez vous des conditions idéales pour étudier en toute quiétude et je vous en serais éternellement reconnaissant.

A mon oncle et mes tantes : Brahima, Doti et N'Gadio

Je ne vous rendrai jamais assez l'affection que vous me donnez si gracieusement.

A tous mes grands-pères et grands-mères :

Merci pour vos bénédictions.

A mes frères et sœurs :

Mariam, Naminata, Dongui, Yacouba, Awa, Djenebou, Adama, Drissa, Kadiatou, Dramane, Nouhoum.

Que ce travail soit une source intarissable de nos liens fraternels et familiaux.

A mes cousins et cousines :

Mariam, Adama, Awa, Moussa, Kadidiatou, Sibiri, Boukary, Chata, Assitan, Drissa, Fatogoma.

Que ce travail soit pour nous une source de consolidation du lien de sang qui nous unit.

A mon oncle Michel et sa famille à Niamakoro

Merci de ta disponibilité et de tes conseils, surtout de l'accueil tant important.

A mes frères et sœurs de la famille à Kalaban-Heremankono

Mahamadou, Yacouba, Chaka, Lacina, Tanti, La vieille, Fatoumata,

Soyez courageux, écoutez les conseils et trouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance.

Qu'ALLAH renforce la cohésion au sein de la famille et nous guide dans nos choix.

A mes neveux et nièces :

Nabi, Daouda, Bapé, Awa karawa et tous les autres qui sont au village

Que Dieu vous accorde une longue vie et une bonne santé et que ce modeste travail puisse être pour vous un exemple.

A Maïmouna COULIBALY dite Maï à Kalaban-Heremankono et son mari

Merci pour l'humanisme et surtout ton esprit de fraternité.

A ma Patronne, Dr Aminata Ousmane TRAORE

Ce travail n'aura sûrement pas abouti sans ton aide. Tu as toujours été là pour moi. J'ai trouvé en toi une sœur et une amie en qui je peux avoir entièrement confiance. Encore une fois merci.

A Dr Kalirou TRAORE, Dr Brahima TRAORE, Dr KAMPO, Dr Drissa SANGARE, Dr Mahamane HAIDARA

Vos sages conseils, vos soutiens moraux et pédagogiques ne m'ont pas fait défaut. Ce travail est également le vôtre.

Au CESKA (collectif des étudiants en santé de Kadiolo)

Toute ma reconnaissance pour l'estime et le respect que vous avez manifesté à mon égard.

Merci pour votre confiance et votre soutien.

A mes camarades de promotion de la FMPOS

Je vous dis encore merci pour votre courage et votre persévérance et surtout pour vos soutiens dans les peines partagées. Le parcours n'a pas été facile.

A notre groupe d'étude,

Dr Brehima TRAORE, Oumou TRAORE, Sékou DOUMBIA, Aboubacar NIARE, Zié Drissa OUARTARA, Bathi CISSE, Imaël COULIBALY, Sadio SYLLA, Koke TANGARA, l'apprentissage avec vous aura toujours été instructif et distrayant, chacun a toujours mis ses qualités au service du groupe faisant ainsi de la pression notre ami. Ce fut un plaisir de travailler avec vous et grâce à Dieu, je sais qu'on sera toujours ensemble.

A mes camarades du lycée de KADIOLO

Votre sincérité et votre disponibilité ne m'ont jamais fait défaut.

A mes amis : Ousmane TRORE, Yaya DEMBELE, Mahamadou KANTE, Moridié KONE, Moussa SANGARE, Soumaïla KONE,

Vous avez été des guides et des éclaireurs pour moi, vous avez toujours répondu à mes attentes. Je ne saurais vous remercier assez et j'implore le tout puissant qu'il exauce nos vœux de bonheurs et renforce d'avantage nos liens d'amitié.

A tout le personnel de l'Officine KY MICHEL

Dr Chlothilde KY, Dr Mariam TOGORA, Moussa DIANE, Fatou FANE, merci pour les conseils et le soutien.

A tout le personnel de l'Officine MOUSSA SAMAKE

Dr Aliou SAMAKE, Fatoumata GOUMANE, Lala SISSOKO.

A tout le personnel du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée

Moussa CISSE: Merci du plus profond de mon cœur pour l'aide inestimable que tu m'as apporté dans tous les domaines et sans restriction. Ton amour pour le travail bien fait et ordonné ont indéniablement facilité ce travail qui s'est déroulé dans de bonne ambiance qui règne toujours autour de toi. Que Dieu te donne une longue vie remplie de bonheur.

A Dr SANGARE, Dr BAGAYOKO, Dr SISSAKO, Dr TRAORE, Dr KONE, Kotou SANGARE, Issoufou SAMAKE, Mamadou COULIBALY.

Vos conseils et vos suggestions ont été d'un apport considérable pour la réalisation de ce travail.

A mes collègues thésards du LBMA: Cheick NDIAYE, Kandia TRAORE, Vincent SANOGO, Issa BERTHE, Robie TENOFO, Daniel BOUARE.

Ce travail est le fruit de nos efforts conjugués. Je saisis cette opportunité pour vous faire part de ma profonde reconnaissance.

A mes collègues inscrits au DEA : Pamela BADJOGO, Chitan KEITA, Diariatou DIAGNE, Sanata TRAORE, Fousseyni DAOU

Ce travail est le fruit de vos efforts conjugués

A tous les autres : Fanta KEITA, Aïchata KONATE, Tonton Fabla

Merci de votre soutien et de votre participation à la réalisation de ce travail

A tous mes enseignants

Depuis le primaire jusqu'à la faculté, je vous remercie très sincèrement chers maîtres de m'avoir légué vos savoirs.

A tout le corps professoral de la FMPOS pour la qualité de l'enseignement dispensé.

Au personnel du décanat de la FMPOS.

A tous les étudiants de la FMPOS.

A tout le personnel de la bibliothèque de la FMPOS.

A tous ceux qui se reconnaîtront dans ce travail :

Je vous remercie infiniment.

Hommage aux membres du jury

A notre maître et Président du jury

Professeur Sékou Fantamady TRAORE

PhD en entomologie médicale,

Maître de conférences en entomologie médicale, responsable du cours de biologie cellulaire à la FMPOS,

Co-directeur du MRTC et Directeur du département d'entomologie et des maladies à transmission vectorielle.

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré.

Veillez agréer cher maître l'expression de notre profonde reconnaissance et de nos sincères remerciements.

A notre maître et juge

Professeur Guimogo DOLO

PhD en parasitologie entomologie médicale,

Maître de conférences en génétique, chargé de cours de génétique à la FMPOS,

Coordinateur régional de lutte antivectorielle/BTB,

Coordinateur paludisme du centre BTB/OMD, centre OMD Afrique de l'Ouest et du centre, Bamako,

Membre du comité sahélien des pesticides.

Cher maître,

Nous vous remercions d'avoir guidé nos premiers pas sur le terrain. Votre sens du partage, votre courage, votre disponibilité constante et vos qualités sociales ont fait de vous un maître respectable et admiré. Vos critiques et vos suggestions ont été d'un apport inestimable pour l'amélioration de ce document.

Veillez accepter cher maître nos sincères remerciements.

A notre maître et juge

Docteur Sitan TRAORE

Entomologiste médicale,

Point focal de la lutte antivectorielle à l’OMS.

Cher maître,

Nous sommes très honorés par votre présence dans ce jury. Votre humanisme, votre disponibilité et surtout votre détermination dans le travail forcent notre respect et notre admiration. Vous avez apporté un concours appréciable pour améliorer ce document.

Veillez accepter cher maître l’expression de notre sincère admiration et de notre profonde reconnaissance.

A notre maître et juge

Docteur Halidou SIDIBE

Médecin de Santé Publique,

Chef de Division Surveillance Epidémiologique et Recherche du Programme National de Lutte contre le Paludisme.

Cher maître,

Nous sommes très heureux de vous compter aujourd’hui parmi les membres de ce jury. Votre disponibilité constante, vos conseils et vos suggestions nous ont permis d’améliorer la qualité de ce travail. C’est le lieu pour nous de vous adresser nos sincères remerciements.

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Ousmane KOITA

Docteur en pharmacie et PhD en parasitologie moléculaire,

Chargé de cours de biologie moléculaire appliquée à la FAST et de biologie animale à la FMPOS,

Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire et Appliquée de la FAST,

Directeur adjoint du Programme NIH/NIAD/FMPOS de recherche sur le SIDA et la Tuberculose.

Cher maître,

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez faite en nous proposant ce travail.

Nous avons vite apprécié vos qualités scientifiques, humaines et surtout votre amour pour le travail bien fait. Ces qualités couplées à votre simplicité et votre générosité font de vous un directeur exemplaire. Homme de terrain, vous avez cultivé en nous l'esprit d'équipe, le dévouement, l'endurance et la persévérance; des qualités sans doute indispensables à la réalisation d'un travail scientifique et qui nous aideront dans les combats futurs. Nous sommes très honorés d'être parmi vos élèves.

Soyez rassuré cher directeur de notre profond attachement et de notre entière confiance.

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique
AgD1 : amorce d'*Anopheles gambiae* diagnostic 1
AgD2 : amorce d'*Anopheles gambiae* diagnostic 2
AgD3 : amorce d'*Anopheles gambiae* diagnostic 3
AgD4: amorce d'*Anopheles gambiae* diagnostic 4
An: Anopheles
AR : Amorce d'Anopheles *arabiensis*
Bp : Base paire
CAP : Connaissances et Attitudes Pratiques
CDC: Center of Disease Control
CTA : Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artemisinine
DDT: Dichloro Diphényle Trichloroéthane
DNTP : Dinotrotriphosphate
FAST : Faculté des Sciences et Techniques
FMPOS: Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie
GA : Amorce d'*Anopheles gambiae s.s.*
Ha : hectare
HCH : Hexachlorocyclohexane
IGR : inhibiteur de croissance
IGS: Intergenic spacer
KD: Knock down
Kdr: knock down resistance
Kds: knock down sensibility
LBMA : Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée
M: Mopti
MgCl₂ : chlorure de magnésium
MII : Moustiquaire Imprégnée d'Insecticide
MILD : Moustiquaire Imprégnée à Longue Durée d'action
MRTC: Malaria Research and Training Center
ml : millilitre

mm: millimètre

mn : minute

NaCl : Chlorure de Sodium

nm: nanomètre

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

OPS : organophosphorés

P : *Plasmodium*

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : potentiel d'hydrogène

PID : Pulvérisation Intra-Domiciliaire

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

RGPH : Recensement Général de la Population et de l'Habitat

R3 : Amorce allée

R5 : Amorce retour

s.l : sens large

s.s : sens strict

SN: Système nerveux

Taq : Tac aquaticus

TBE : Tris Borate EDTA

TDR : Test de Diagnostique Rapide

t/mn : tours par minute

UB : Université de Bamako

UN : Amorce universelle

UV : Ultraviolet

µl: microlitre

µm : micromètre

WHO: WORLD HEALTH ORGANIZATION

Liste des figures

Figure 1: Cycle biologique de l'Anophèle.....	9
Figure 2 : Carte du district de Bamako avec les sites d'étude (IGM, 2011)	31
Figure 3 : Piège de type CDC dans la cours d'une concession.....	33
Figure 4: Piège de type CDC dans la chambre.....	33
Figure 5 : Cônes OMS sur le mur d'une chambre pulvérisée	37
Figure 6: Moustiques testés en observation dans les gobelets.....	37
Figure 7 : Place des amorces sur le gène Intergenic Spacer (IGS) de l'ADN ribosomal (ADNr)	40
Figure 8 : Identification des espèces sur un gel d'agarose (2%).....	42
Figure 9: Photos d'identification des formes moléculaires d' <i>An. gambiae s.s</i> sur un gel d'agarose à 2%.....	44
Figure 10: Place des amorces sur le gène Intergenic Spacer (IGS) de l'ADN ribosomal (ADNr).....	46
Figure 11 : Taux de mortalité d'une population d' <i>An. gambiae s.l</i>	54
Figure 12: Composition du complexe <i>Anopheles gambiae s.l</i> des 3 mois.....	56
Figure 13 : Composition des formes moléculaires d' <i>Anopheles gambiae s.s</i>	56

Liste des Tableaux

Tableau I : Concentration des réactifs nécessaires à l'identification des espèces <i>An. arabiensis</i> et <i>An. gambiae s.s</i>	39
Tableau II: Programme d'amplification :.....	40
Tableau III : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées.....	40
Tableau IV : Concentration des réactifs nécessaires à l'identification des formes moléculaires de l'espèce <i>An. gambiae s.s</i>	43
Tableau V : Programme d'amplification.....	43
Tableau VI: Séquences nucléotidiques des amorces utilisées.....	44
Tableau VII: Concentration des réactifs nécessaires à la caractérisation du gène <i>kdr</i>	45
Tableau VIII: Programme d'amplification.....	45
Tableau IX : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées.....	46
Tableau X: Moyens de protection contre les moustiques à Djicoroni Para et à Taliko.....	49
Tableau XI: Les cas de paludisme présumés ou présomptifs sans diagnostic biologique sur les 2 sites.....	50
Tableau XII: Type et nombre de gîtes larvaires identifiés à Djicoroni Para et à Taliko.....	50
Tableau XIII: Nombre et densité moyenne des larves d' <i>An. gambiae s.l</i> collectées à Djicoroni Para et à Taliko.....	50
Tableau XIV: Nombre et densité moyenne d' <i>An. gambiae s.l</i> sur les deux sites en 3 nuits de capture (piège CDC).....	51
Tableau XV : Nombre et densité moyenne d' <i>An. gambiae s.l</i> sur les deux sites en 3 jours de capture (spray catch).....	52
Tableau XVI : Les principaux changements constatés par la population après la PID.....	53
Tableau XVII : Le taux de satisfaction des personnes interrogées après la PID.....	53
Tableau XVIII : Ennuis rencontrés par les habitants des concessions pulvérisées sur les 2 sites.....	53
Tableau XIX: Les cas de paludisme présumé ou présomptif sans diagnostic biologique sur les 2 sites dans les concessions pulvérisées 3 mois après la PID.....	54
Tableau XX: Espèces, formes moléculaires et fréquence allélique des génotypes <i>Kdr</i> d' <i>An. gambiae s.s</i> . à Taliko et a Djicoroni Para en mars, août et septembre 2009.....	55

Tableau XXI : Fréquence allélique F(R) chez les formes moléculaires *d'An. gambiae s.s* sur les 2 sites.....57

SOMMAIRE

I-INRODUCTION.....	1
II-OBJECTIFS.....	4
III-GENERALITES.....	5
IV-METHODOLOGIE.....	28
V-RESULTATS:.....	49
<u>VI-COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....</u>	<u>59</u>
<u>VII-CONCLUSION.....</u>	<u>62</u>
VIII-RECOMMANDATIONS.....	63
IX-BIBLIOGRAPHIE.....	64
X-FICHE SIGNALETIQUE.....	73
XI-DESCRIPTIVE CARD.....	75
SERMENT DE GALIEN.....	77

I-INRODUCTION

Le paludisme ou malaria est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante. Il est dû à la présence et à la multiplication dans l'organisme humain d'une des espèces plasmodiales inféodées à l'homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* et *Plasmodium ovale*. Ces parasites sont transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique femelle du genre *Anopheles* [28].

Chaque année, la maladie affecte quelque 250 millions de personnes et en tue un million, essentiellement des enfants africains de moins de cinq ans [44].

Le paludisme est responsable de 13% de mortalité et de 15,6% de morbidité dans la population générale [19].

Les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans sont les plus vulnérables, un enfant sur vingt meurt de paludisme avant l'âge de 5 ans [42].

L'Afrique est le continent le plus touché avec environ 85% des 250 millions des cas annuels de paludisme enregistrés dans le monde [44].

Un enfant africain subit en moyenne 1,6 à 5,4 épisodes de fièvres palustres chaque année. En Afrique un enfant meurt du paludisme toutes les 30 secondes [43]. En Afrique subsaharienne 3000 jeunes enfants meurent de paludisme par jour, soit environ 20 % de la mortalité infantile totale [43].

Au Mali, 36% des fièvres sont d'origine palustre chez les enfants de moins de 10 ans pendant la saison des pluies [18].

Au Mali, 16 à 28% des enfants de 0 à 5 ans en meurent chaque année et 42% des femmes enceintes présentent des signes d'anémie [19].

Au Mali, la transmission du paludisme est assurée par *Anopheles gambiae s.l.* et *Anopheles funestus* [29]. Le vecteur principal est le complexe *Anopheles gambiae*, anthropophile et endophile. Ce complexe se développe dans de petites collections d'eau calme et non polluée, particulièrement pendant la saison des pluies. Le vecteur secondaire est *Anopheles funestus*, également anthropophile et endophile. Ce vecteur qui a pour gîte larvaire les eaux profondes avec végétation aquatique (mares temporaires), assure le relais de la transmission pendant la saison sèche [54].

Il ressort des études menées au Mali par Traoré [56], que la participation d'une espèce anophélienne vectrice ou d'une forme chromosomique d'*Anopheles gambiae s.s.* dans la transmission du paludisme est en rapport avec les variations saisonnières de leurs fréquences.

Les fréquences des formes Bamako et Savane sont élevées pendant la saison des pluies tandis que celles de la forme Mopti et d'*An. arabiensis* prédominent au début et à la fin de la période pluvieuse. Quant à l'espèce *An. funestus*, ses fréquences sont élevées en fin de saison pluvieuse [12]. Ce système de relais mis en évidence à Banambani par Traoré et al, [56] a été confirmé à Donéguébougou [47]. Ceci témoigne de l'intensité et de la stabilité de la transmission du paludisme pendant toute l'année dans cette localité.

La nouvelle stratégie de lutte contre le paludisme recommandée par l'OMS en 2007 est l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action et leurs distributions à tous les habitants gratuitement ou à un prix fortement subventionné [64].

Le Mali, conformément à la déclaration d'Amsterdam (1992) dispose depuis 1993 d'un Programme National de Lutte contre le Paludisme qui a été rattaché au secrétariat général du ministère de la santé par Décret N° 07-022/P-RM du 18/07/2007.

Ce service a en charge la surveillance épidémiologique du paludisme et la mise en œuvre de la politique sanitaire (Plan stratégique). Ce plan stratégique a pour but :

- d'atteindre une couverture universelle en Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action à travers la distribution gratuite lors des consultations prénatales, lors des consultations d'enfants malades et des campagnes de distribution de masse sur l'ensemble du territoire national ;
- d'atteindre une couverture universelle en Sulfadoxine Pyriméthamine (SP) à travers la distribution gratuite aux femmes enceintes sur l'ensemble du territoire national ;
- de détecter les cas de paludisme par les Tests de Diagnostic Rapide (TDR) et d'administrer un traitement précoce et correct avec les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisine (CTA) ;
- de développer des interventions à base communautaire rapprochant la prévention, le diagnostic et le traitement le plus près possible des ménages ;
- de développer la lutte antivectorielle intégrée (distribution des moustiquaires imprégnées à longue durée d'action, la Pulvérisation Intra Domiciliaire, l'aménagement et l'assainissement) et enfin la lutte anti-larvaire pour réduire la transmission du paludisme [4].

Malgré l'adoption de ces différentes stratégies, certaines difficultés sont rencontrées dans la lutte contre le paludisme à savoir : la résistance des vecteurs à certains insecticides et la résistance des parasites à certains médicaments antipaludiques. Ces difficultés ont conduit l'OMS à préconiser des stratégies de prise en charge globale et intégrée parmi lesquelles la lutte anti vectorielle occupe une place de choix.

Dans le cadre de la lutte anti vectorielle, l'OMS avait déjà entrepris depuis les années 1950-1960 des campagnes de pulvérisation intra-domiciliaire avec des insecticides à effets rémanents (DDT et Dieldrine).

Dans plusieurs pays des tests de sensibilité ont été réalisés notamment en Côte d'Ivoire [21], au Bénin [3], au Cameroun [24] et au Mali [20].

Des moustiques résistants à la perméthrine parmi les populations d'Anophèles d'un certain nombre de pays ont été découverts.

Une réduction de la sensibilité de l'Anophèle à la perméthrine a été également signalée au Kenya [41].

Au Mali, en 1995 et en 1998 des études menées dans le but de surveiller et de vérifier l'état de la sensibilité quelques temps après l'utilisation des moustiquaires imprégnées, ont montré qu'*An .gambiae* était sensible aux pyréthriinoïdes et au DDT [11].

Selon des études effectuées au Burkina Faso [15], au Bénin [8] et en Côte d'ivoire [39], il a été révélé que cette résistance dite croisée est régie par un gène dénommé ``gène *kdr*'' (gène de knock-down résistance).

D'autres études menées sur les populations anophéliennes vectrices en Afrique Occidentale ont fait cas de la présence du gène uniquement chez la forme S [25; 2; 59]. Exceptionnellement au Bénin, Akogbeto et coll. [2] ont mis en évidence ce gène chez la forme moléculaire M.

Ainsi pour une meilleure efficacité de la lutte antivectorielle et de la protection des populations sensibles au paludisme, le gouvernement du Mali a décidé d'encourager le secteur privé dans l'importation des insecticides utilisés en santé publique.

C'est dans ce cadre que le Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée en collaboration avec la Direction de l'Hygiène Publique et de Salubrité et le Programme National de Lutte contre le Paludisme ont testé l'efficacité et la rémanence de deux insecticides, la K-Othrine[®] WG 250 (Deltaméthrine) et le Ficam[®] VC (Bendiocarbe) en Pulvérisation Intra Domiciliaire dans la commune IV du District de Bamako.

II-OBJECTIFS

1-Objectif général :

Tester l'efficacité de la K-Othrine[®] WG 250 et du Ficam[®] VC en Pulvérisation Intra Domiciliaire sur les populations anophéliennes du district de Bamako et évaluer leur rémanence.

2-Objectifs spécifiques :

- ❖ Déterminer l'efficacité de la K-Othrine[®] WG 250 et du Ficam[®] VC en Pulvérisation Intra Domiciliaire ;
- ❖ Estimer la rémanence de la K-Othrine[®] WG 250 et du Ficam[®] VC sur 6 mois;
- ❖ Identifier les membres du complexe *An. gambiae* et les formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* par la PCR ;
- ❖ Déterminer la fréquence du gène Kdr chez *An. gambiae s.s* du district de Bamako par la PCR.

III-GENERALITES

1-Paludisme :

Le paludisme est une affection grave qui affecte quelque 250 millions de personnes par an dans le monde et en tue un million, essentiellement des enfants africains de moins de cinq ans [44]. Le paludisme est dû à 4 espèces parasitaires différentes : (*p. falciparum*, *p. malariae*, *p. ovale*, *p. vivax*) mais seul *p. falciparum* est responsable des formes encéphaliques potentiellement mortelles. Ces espèces sont transmises par la piqûre de la femelle de l'Anophèle, fortement anthropophile et hématophage.

2-Parasite :

Le Plasmodium est un sporozoaire qui appartient au phylum des *Apicomplexa*, à la classe des *Sporozoaires*, à l'ordre des *Eucoccidies* et à la famille des *Plasmodidae*.

2-1-Cycle biologique du plasmodium

Le cycle de développement du plasmodium nécessite deux hôtes obligatoires : l'homme et le moustique.

2-1-1-Cycle parasitaire chez l'homme

Il se déroule en deux phases : une phase hépatique (ou exo-érythrocytaire) et une phase sanguine (ou érythrocytaire)

2-1-1-1-La phase hépatique

L'anophèle femelle infesté en piquant l'homme lui inocule dans le sang le parasite sous forme de sporozoïtes. Ceux-ci restent dans la circulation sanguine pendant une demi-heure avant de pénétrer dans les cellules du foie.

Une fois dans l'hépatocyte, les sporozoïtes restent quiescents (hypnozoïtes) pour le *P. ovale* et le *P. vivax* ou par multiplication nucléaire, ils deviennent des schizontes intra hépatocytaires (corps bleus). Cette phase dure 7 à 21 jours en fonction de l'espèce plasmodiale, elle est cliniquement muette et correspond à la phase d'incubation de la maladie.

2-1-1-2-La phase sanguine

La rupture des corps bleus libère des mérozoïtes qui pénètrent les globules rouges par endocytose et se transforment en trophozoïte. Le trophozoïte grossit et se transforme en schizonte sanguin qui est appelé corps en rosace à maturité et qui contient de nombreux mérozoïtes dont le nombre varie selon l'espèce plasmodiale. L'éclatement de l'hématie libère les mérozoïtes dans la circulation sanguine. Chaque mérozoïte envahit une nouvelle hématie, poursuivant ainsi le cycle intra érythrocytaire. Au cours de la multiplication dans les hématies,

le parasite va produire au dépend de l'hémoglobine un pigment appelé l'hémozoïne. Parallèlement apparaissent dans l'hématie des taches de Maurer pour (*P. falciparum*), des granulations de Schuffner pour (*P. vivax* et *P. ovale*) ou des ponctuations de Ziemann pour (*P. malariae*).

Le cycle sanguin dure 48 heures chez le *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale*, 72 heures chez le *P. malariae*. C'est l'éclatement simultané des corps en rosace d'une même génération qui provoque l'accès fébrile typique du paludisme.

Après plusieurs cycles schizogoniques sanguins, certains mérozoïtes se différencient en élément à potentiel sexué : les gamétocytes. Ceux-ci ne poursuivront leur développement que s'ils sont absorbés par un anophèle femelle.

2-1-2-Cycle parasitaire chez l'anophèle.

Encore appelé cycle sporogonique, il débute dès l'infection de l'anophèle femelle ayant piqué un impaludé porteur de gamétocytes.

Les gamétocytes passent dans l'estomac de l'anophèle, le gamétocyte femelle (ou macrogamétocyte) se transforme et devient immobile. Le gamétocyte mâle (microgamétocyte) va subir une exflagellation qui l'allongera et le rendra mobile.

La fécondation du macrogamétocyte par le microgamétocyte aboutit à la formation d'un œuf mobile dans la lumière du tube digestif appelé ookinète. Celui-ci va traverser le tube digestif pour aller s'enkyster sur sa face externe formant un oocyste. Une fois mûr, l'oocyste éclate et libère des sporozoïtes qui vont gagner les glandes salivaires de l'anophèle d'où ils seront inoculés à l'Homme lors d'une nouvelle piqûre.

La durée du cycle chez l'anophèle est de 10 à 40 jours selon la température extérieure et les espèces [52].

3-Vecteur :

Le vecteur du paludisme est un moustique du genre *Anopheles*. Son développement comprend quatre phases successives : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago. Les stades d'œuf, de larve et de nymphe sont aquatiques, tandis que les adultes sont aériens.

3-1-Systématique

Les anophèles sont des diptères nématocères appartenant à la famille des *culicidae* ou moustique vrais, à la sous famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles* [34]. Seules les femelles sont hématophages, les mâles quant à eux sucent le suc des plantes.

3-2-Morphologie des Anophèles

Les imagos se posent obliquement au support, la trompe dans l'axe du corps.

Ils sont divisés en trois parties:

- la tête : qui porte deux yeux et deux palpes de même longueur que la trompe qui est aussi appelée proboscis.
- le thorax : comporte également trois parties : le prothorax, le mésothorax portant la paire d'ailes fonctionnelles et le métathorax qui porte les pattes postérieures.
- l'abdomen : constitué de dix segments dont les 9^{ème} et 10^{ème} peu visibles, représentent les segments génitaux.

An. funestus se distingue morphologiquement d'*An. gambiae* par sa taille plus petite, sa couleur plus sombre.

3-3-Biologie

Les mâles fécondent les femelles qui prennent un ou plusieurs repas de sang (selon les espèces) et vont pondre dans les gîtes les plus proches. Après éclosion, il faut environ 7 à 12 jours pour *An. gambiae* et 3 semaines pour *An. funestus*, à la température de 27°C pour effectuer la totalité du cycle : œuf à imago.

3-3-1-Œufs

Les anophèles pondent généralement leurs œufs séparément à la surface de l'eau. Chaque œuf est muni de flotteurs latéraux remplis d'air qui l'empêche de couler [55]. L'éclosion se produit généralement 24 à 36 heures après la ponte mais elle peut être retardée par des baisses de température [36]. Les œufs restent à la surface de l'eau durant l'embryogenèse.

3-3-2-Larve

Une larve sort de l'œuf après un ou deux jours et flotte parallèlement juste sous la surface de l'eau car elle a besoin de respirer de l'air. Elle se nourrit de particules présentes dans l'eau. Si on la dérange, elle plonge rapidement vers le fond mais elle reviendra sans tarder à la surface pour respirer.

Il y a quatre stades larvaires ou instar. La larve qui sort de l'œuf est appelée le premier instar. Après un jour ou deux, elle mue, abandonnant son enveloppe et devient ainsi le second instar, suivi par le troisième et le quatrième instar, à des intervalles d'environ deux jours chacun. La larve reste au stade de quatrième instar pendant trois ou quatre jours ou plus, avant de se changer en puppe. Le temps total passé au stade larvaire est généralement de huit à dix jours à la température normale de l'eau en milieu tropical. Si la température est plus basse, les stades aquatiques prendront plus de temps pour se développer.

3-3-3-Puppe

La pupe ou nymphe est le stade pendant lequel une transformation majeure a lieu, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte. La pupe a la forme d'une virgule, elle ne se nourrit pas et plonge au fond de l'eau si elle est dérangée. Le stade nymphal dure 2 à 3 jours après quoi la carapace de la pupe se fend, le moustique adulte émerge et se repose temporairement à la surface de l'eau jusqu'à ce qu'il soit capable de s'envoler.

3-3-4-Adulte

La copulation a lieu après l'éclosion. La femelle ne copule généralement qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à cette occasion assez de sperme pour féconder tous les lots d'œufs successifs. Normalement, elle ne prend son premier repas sanguin qu'après la copulation, mais parfois le premier repas sanguin peut être pris par une femelle encore vierge. Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces), tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul repas de sang.

Les habitudes de nourriture et de repos des moustiques sont d'une grande importance dans les programmes de contrôle et pour cette raison, elles doivent être bien comprises. La plupart des espèces d'anophèles piquent la nuit. Certaines piquent juste après le coucher du soleil, d'autres piquent plus tard aux environs de minuit ou même aux petites heures matinales. Certaines espèces entrent dans les maisons pour piquer (endophages), d'autres préfèrent piquer à l'extérieur (exo phages).

Après que le moustique ait pris son repas de sang, il se repose pendant une courte période. Les moustiques qui sont entrés pour piquer se reposent habituellement sur un mur, sous le mobilier ou sur des vêtements pendus dans la maison. Ils sont dits endophiles. Ceux qui piquent à l'extérieur se reposent habituellement sur des plantes, dans des trous, sur des arbres, sur le sol ou d'autres endroits frais et sombres sont dits exophiles.

Les préférences trophiques varient suivant les différentes espèces de moustiques. Certaines préfèrent prendre du sang chez l'homme plutôt que chez les animaux, elles sont appelées anthropophiles, tandis que d'autres, qui préfèrent le sang des animaux sont appelées zoophiles. Bien entendu, celles qui préfèrent l'homme sont les plus dangereuses, car elles sont susceptibles de transmettre la maladie d'homme à homme.

Les Anophèles, moustiques sauvages à l'origine [36], sont à l'heure actuelle hautement anthropophile. Ils peuvent demeurer dans les habitations où ils s'alimentent jusqu'à la maturation de leurs œufs.

Le pic de l'activité des Anophèles se situe après minuit [36].



Figure 1 : Cycle biologique de l'Anophèle (Brunhes et coll.)

3-4-Classification de l'*An. gambiae s.l* par la cytogénétique et par la biologie moléculaire

L'identification cytogénétique (chromosomes polyténiques) a montré qu'*An gambiae s.l.* est composé d'*An. arabiensis* et de trois formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s.* dénommées Bamako, Mopti et Savane [26]. En revanche, la biologie moléculaire (ADNr) a regroupé *An gambiae s.s.* en deux formes moléculaires : la forme moléculaire M et la forme moléculaire S [26].

4-Méthodes de lutte contre le paludisme

On distingue deux méthodes de lutte, l'une visant à détruire l'agent pathogène et l'autre orientée contre le vecteur.

4-1- Lutte contre le parasite

Cette lutte repose sur l'utilisation des substances antipaludiques (les schizonticides et les gametocides) qui sont actives contre les différents stades sanguins du parasite.

Elle vise soit à éliminer les parasites déjà présents chez un hôte (c'est la chimiothérapie), soit à prévenir l'installation et le développement du parasite chez l'homme (c'est la chimioprophylaxie). Cette dernière voie est habituellement réservée aux groupes à risque tels que les femmes enceintes et les personnes non immunes séjournant en zone d'endémie pour de courtes durées [6].

4-2- Lutte anti vectorielle :

4-2-1-Les indications principales de la lutte anti vectorielle:

4-2-1-1-Maîtrise et/ou prévention des épidémies de paludisme

Ces méthodes nécessitent, si elles peuvent être effectuées avant le pic de transmission attendu, des pulvérisations intra domiciliaire avec des insecticides à effet rémanent ou l'imprégnation des moustiquaires si celles-ci sont largement utilisées dans la zone affectée. Si l'épidémie a déjà commencé, le recours à des mesures de lutte anti vectorielle d'urgence telles que les pulvérisations spatiales peuvent être envisagées ; si ces méthodes ont été efficaces pour l'espèce cible dans la même configuration écologique et si des ressources sont disponibles pour leur mise en œuvre immédiate [61].

4-2-1-2-Elimination des nouveaux foyers d'infestation dans les zones exemptes de paludisme.

Selon l'extension et le nombre de ces foyers, les pulvérisations intra domiciliaires à effet rémanent doivent être considérées comme des mesures d'urgence [61] ;

4-2-1-3-Prévention des pics saisonniers de transmission du paludisme

Ils peuvent quelquefois présenter des caractéristiques d'épidémies saisonnières. Il est parfois possible de faire une application saisonnière systématique de la pulvérisation des murs à effet rémanent et/ou de l'imprégnation des moustiquaires. Il peut aussi être utile d'envisager des méthodes d'aménagement de l'environnement, de réduction des gîtes larvaires ou de destruction des larves dans les zones à forte densité démographique telles que les zones urbaines ou les zones de projets de développement de façon à réduire le risque de transmission ;

4-2-1-4-Lutte contre la transmission dans les situations à haut risque

Ces situations existent dans les camps de travail ou de réfugiés, où des personnes non immunes et d'autres infestées peuvent se retrouver ensemble dans des conditions de forte transmission potentielle. Si la lutte antipaludique est prise en considération lorsque la situation

à haut risque est créée (par exemple : lorsqu'on installe des camps de réfugiés ou de travail), il peut être possible d'envisager des mesures environnementales telles que le choix du site en fonction de la transmission ou de leur assainissement ;

4-2-1-5-Réduction de la transmission dans les régions de forte pharmaco-résistance

La pharmaco-résistance (résistance a certaines molécules) peut être particulièrement élevée dans les zones qui ont été soumises à une forte pression de sélection suite à l'utilisation massive d'antipaludiques là où la lutte anti vectorielle a été jugée difficile à organiser. La méthode qui peut être la plus appropriée en pareil cas est l'utilisation de matériaux imprégnés d'insecticides (moustiquaire, rideaux, teinture, vêtement), bien que cela puisse poser de sérieux problèmes logistiques dans certaines régions [61] ;

4-2-1-6-Lutte contre le paludisme endémique

La méthode la plus indiquée pour obtenir des résultats durables est l'utilisation de matériaux imprégnés d'insecticides, même si la pulvérisation des murs a été et est encore très largement utilisée. Une fois de plus dans les zones à forte densité démographique, l'aménagement de l'environnement et la lutte anti larvaires doivent être envisagés, puisqu'il peut être possible d'intégrer la lutte antipaludique à d'autres activités de lutte anti-moustiques visant à lutter contre d'autres maladies à transmission vectorielle voire contre les nuisances engendrées par des moustiques [61].

4-2-2-Les méthodes de lutte anti vectorielle peuvent être classées de différentes manières

D'un point de vue épidémiologique, il peut être recommandé de les classer en fonction de l'effet principal recherché et par conséquent du maillon de la chaîne de transmission le plus directement touché par leur application. Une telle classification peut être utile pour le choix d'une méthode de lutte :

4-2-2-1-Méthodes permettant de réduire le contact homme vecteur

Cette catégorie couvre toutes les méthodes dans lesquelles une barrière est créée entre les vecteurs et les humains et comprend les méthodes suivantes :

Utilisation des moustiquaires et/ou des moustiquaires imprégnées:

L'utilisation des moustiquaires imprégnées avec les pyréthrinoïdes à action rémanente a considérablement augmenté leur efficacité, en plus de l'effet barrière de la moustiquaire, l'action répulsive et létale de l'insecticide s'ajoute [61]. L'effet répulsif des pyréthrinoïdes empêche les piqûres à travers la moustiquaire et souvent aussi la pénétration des moustiques à travers les trous de la moustiquaire.

Cette méthode présente aussi l'avantage d'être efficace pour la protection individuelle [61]. L'effet de masse, comme pour toute autre méthode de lutte repose sur une couverture importante, mais lorsque celle-ci est faible, les individus qui utilisent les moustiquaires sont protégés. Pour cette raison l'utilisation des moustiquaires peut être introduite progressivement dans une population grâce à des activités promotionnelles appuyées.

Les habitants peuvent être protégés par la pose de grillages sur les fenêtres, les avant-toits et les portes. C'est une méthode efficace si elle est appliquée et maintenue correctement. Elle constitue presque exclusivement une méthode de protection individuelle et familiale mais nécessite un investissement important et entraîne des coups d'entretien élevés [61].

Utilisation de répulsifs :

On peut les appliquer directement sur la peau (sous forme de crème, lotion ou aérosol) ou sur les vêtements. L'utilisation de produits répulsifs est aussi une méthode de protection individuelle qui ne peut être recommandée que comme complément à l'utilisation des moustiquaires et des méthodes de protection des maisons, à utiliser après le crépuscule avant de se retirer pour aller se coucher sous la moustiquaire ou par les personnes qui doivent rester dehors pendant une partie de la nuit.

Utilisation des diffuseurs d'insecticides volatiles :

Ils sont largement utilisés sous les tropiques pour la protection individuelle, en particulier sous forme de serpentins anti-moustiques et dans les zones urbaines sous formes de diffuseurs électriques.

4-2-2-2-Méthodes visant principalement à réduire la densité du vecteur :

La plupart des méthodes pratiquées visant à réduire la densité vectorielle, nécessite le traitement des gîtes larvaires du vecteur qui conduit à les éliminer ou à réduire considérablement leur production dans les sites traités. Leur effet sur la transmission du paludisme dépendra donc de l'importance relative des gîtes larvaires traités dans le maintien de la densité du vecteur. Toutefois il n'est pas exceptionnel de constater que même si certains gîtes ont de très fortes densités larvaires, la transmission se maintient principalement par des gîtes temporaires dépendant des pluies. Le principal inconvénient de ces méthodes est donc la difficulté qu'il y a à localiser et à traiter tous les gîtes essentiels au maintien de la transmission du paludisme. Ces méthodes comprennent toutes les formes de lutttes anti-larvaires telles que décrites ci-dessous :

4-2-2-2-1-Réduction des gîtes larvaires par l'aménagement de l'environnement :

Ce sont le drainage, l'écoulement des eaux, le remblaiement et l'intervention sur les rives des rivières et des lacs pour les rendre impropres au développement de l'anophèle. Ce sont des méthodes classiques d'assainissement contre le paludisme qui peuvent être appliquées à tous les gîtes larvaires de moustiques en général, ou être ciblées sur les gîtes spécifiques des vecteurs du paludisme localement important (l'assainissement ciblé) qui exige comme mentionné précédemment une connaissance détaillée de la biologie des vecteurs locaux [61]. En général, ces méthodes sont appropriées pour l'élimination des gîtes larvaires permanents, dont l'importance doit être évaluée avant de se lancer dans le processus onéreux qui consiste à les éliminer. Dans un environnement entièrement créé par l'homme, l'aménagement doit être la première ligne de défense pour réduire les risques de transmission du paludisme.

4-2-2-2-Traitement larvicide :

Il s'agit là de l'utilisation des insecticides tant d'origine chimiques que biologiques tel que toxine du *Bacillus thuringiensis israelensis* et les régulateurs de croissance des insectes [61]. Elle nécessite le traitement de tous les gîtes larvaires et peut présenter les mêmes problèmes que la réduction de ces derniers lorsque les gîtes temporaires ont une grande importance épidémiologique. Contrairement aux méthodes d'assainissement, les larvicides ont normalement peu d'effet rémanent et nécessitent des applications régulières et fréquentes.

4-2-2-2-3-Accroissement de la mortalité du vecteur adulte :

L'accroissement de la mortalité des vecteurs adultes réduit leur longévité et par conséquent la probabilité que le parasite puisse achever son développement. La diminution du taux quotidien de survie du vecteur a un impact considérablement plus grand sur la transmission. Les deux méthodes disponibles pour augmenter la mortalité du vecteur adulte sont décrites ci-dessous :

Pulvérisation des murs avec des insecticides à effet rémanent.

Les méthodes de pulvérisation des murs à l'aide d'insecticides à effet rémanent permettent de concentrer l'effet destructif sur les vecteurs qui se reposent dans les maisons. C'est un moyen très efficace d'utiliser l'insecticide pour tuer les vecteurs susceptibles de transmettre le paludisme. Bien que le Pyrèthre ait été le premier insecticide utilisé, la pulvérisation intra domiciliaire est devenue la méthode la plus répandue de lutte contre les vecteurs du paludisme avec l'introduction du DDT et d'autres insecticides à effet rémanent. Son inconvénient principal est que les vecteurs exophiles n'entrent pas en contact avec les surfaces pulvérisées. En outre, cette caractéristique comportementale peut être sélectionnée suite au traitement insecticide.

Utilisation généralisée des moustiquaires imprégnées d'insecticide par des communautés.

Lorsqu'une grande proportion de la population d'une communauté est protégée par des moustiquaires imprégnées d'insecticides, il peut y avoir une réduction considérable de la survie, de la densité et de l'infectibilité des vecteurs ("effet de masse") et donc de la transmission du paludisme.

4-2-2-2-4-Lutte biologique :

Lutte biologique par les insecticides d'origine bactérienne :

Certaines bactéries du genre *Bacillus* présentent une toxicité spécifique vis à vis de certains groupes d'insectes et notamment des larves de diptères nématocères. Ces bactéries sont des poisons d'ingestion. L'action est rapide et le produit se comporte comme un insecticide biochimique. Plusieurs toxines ont été isolées ; la principale est localisée dans une inclusion cristalline parasporale protéique qui se forme lors de la sporulation. Ce cristal renferme en fait une protoxine qui, une fois ingérée est détruite par les protéases digestives de la larve de moustique en pH alcalin. L'endotoxine libérée provoque une hypertrophie rapide, puis une dégénérescence de l'épithélium du mésenteron, entraînant la mort de la larve.

Deux espèces bactériennes présentent cette propriété :

Bacillus thuringiensis sérotype H14 (Tecknar®), anciennement dénommé *B. thuringiensis israelensis*. Elle est très active contre les larves de simulies et d'Aèdes, un peu moins active sur les larves d'Anophèles.

Bacillus sphaericus souche 2297 (ou R4), synthétisé en cristal parasporal comparable à celui de *B. thuringiensis*. La souche 1593-4, plus anciennement connue est acristallogène. Ces souches sont particulièrement actives sur les larves de *Culex* et d'Anophèles et dans une moindre mesure sur celles d'Aèdes.

Ces bactéries ne semblent pas se reproduire dans le milieu naturel, toutefois le recyclage n'est pas exclu pour *B. sphaericus*.

Elles sont dépourvues de toxicité pour les mammifères et la faune non-cible.

Lutte biologique par des parasites ou des agents pathogènes :

L'OMS étant très stricte sur ce domaine, envisage un programme de développement par étapes des agents pathogènes en perfectionnant les formulations, en sélectionnant les souches

les plus actives et en s'assurant de leur innocuité pour la faune aquatique avant que ces agents ne puissent être utilisés.

Cependant, les virus iridescents qui attaquent les larves de moustiques, les champignons *Metarhizium anisopliae* et les nématodes de la famille des Mermithides, parasites des insectes, présentent certaines bonnes perspectives. Leur handicap majeur reste le manque d'une méthode de production massive.

Lutte biologique par des prédateurs :

Plusieurs types de prédateurs ont déjà été utilisés. Le poisson larvivoire *Gambusia affinis* a été introduit en Europe, au Moyen orient, aux Etats-Unis pour lutter contre les moustiques. Son action est cependant limitée aux eaux permanentes.

En Afghanistan, il est très largement utilisé pour lutter contre les Anophèles dans les rizières. L'inconvénient majeur est qu'il est omnivore. En l'absence de larves de moustiques, il se nourrit des organismes non cibles.

Le guppy, *Lebistes reticulatus* supporte des eaux très polluées et a été recommandé pour contrôler *Culex fatigans* dans les drains en Extrême Orient et en Nouvelle Calédonie.

L'utilisation des prédateurs qui, à priori semble très séduisante, présente souvent de sérieuses difficultés. L'efficacité des poissons, par exemple, varie considérablement d'un milieu à l'autre et son évaluation réelle en terme épidémiologique n'a jamais été faite. Les effets adverses que peut provoquer l'introduction de nouvelles espèces sont difficiles à prévoir. C'est le cas des mollusques qui ne se limitent pas seulement à la destruction des hôtes intermédiaires de la bilharziose, mais qui s'attaquent également à nombre d'autres invertébrés et leur dissémination pourrait être suivie de désastres écologiques.

De même, bien que l'utilisation des poissons soit fortement encouragée comme un élément de la lutte intégrée contre les moustiques, elle ne reste pas sans limites. En effet, ils seraient de peu d'efficacité contre un vecteur comme *Anopheles gambiae* dont la plupart des gîtes sont très temporaires.

4-2-2-2-5-La lutte génétique :

Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement [51].

Les manipulations intéressent également les plantes telles les algues qui se reproduisent dans les gîtes larvaires. Ces algues génétiquement modifiées par intégration de gènes de toxines bactériennes agissent sur les larves de moustiques.

4-2-2-2-6-La lutte chimique

La lutte chimique passe par l'utilisation des produits chimiques. Elle se pratique à l'aide de substances naturelles ou de synthèse qui provoquent la mort des arthropodes par empoisonnement ; ces substances sont appelées des insecticides. Les acaricides, les IGRS (inhibiteur de croissance) et les bactéries pathogènes productrices de toxines sont également considérés comme des insecticides.

Les principales familles d'insecticides utilisées :

Les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les analogues des hormones d'insectes et les insecticides minéraux.

A-Définitions :

Selon l'OMS, **un pesticide** est une substance utilisée pour combattre les rongeurs pendant la production, le stockage, le transport, la distribution ou la transformation des denrées destinées à l'alimentation humaine ou animale ou susceptible d'être administrée à des animaux pour lutter contre les insectes ou les arachnides à l'intérieur ou à l'extérieur de leur corps.

Un insecticide est une substance ou préparation destinée à lutter contre les insectes et les êtres vivants voisins des insectes. Un insecticide idéal pour la lutte contre les pestes et les vecteurs de maladies doit avoir les propriétés suivantes [49] :

- une grande efficacité sur les vecteurs cibles ;
- une efficacité à faible dose, sans provoquer de résistance ;
- une grande activité sur les autres insectes nuisibles de la maison ;
- coût.

B-Classification des insecticides :

a-Composés minéraux :

- **Le vert de paris (Acétonitrile de cuivre)** est connu depuis longtemps pour ses propriétés larvicides [28] ; très toxique avec une DL50 par voie orale de 22 mg/kg de rat.
- **Les huiles minérales** : elles sont dérivées du pétrole et sont déversées sur les gîtes larvaires des moustiques, agissant à la fois mécaniquement en empêchant la respiration des larves et chimiquement en les intoxiquant.
- **Les gels de silice** : agissent comme abrasifs de l'épicuticule des insectes qui, privés de leur revêtement protecteur se déshydratent et meurent.

• **Les lécithines liquides** : provoquent une forte mortalité des nymphes de moustiques lorsqu'elles sont répandues à la surface des gîtes larvaires.

b-Composés organochlorés :

Ce sont des insecticides caractérisés par :

- l'existence de plusieurs atomes de carbones constitués de dérivés monocycliques ou polycycliques comportant plusieurs atomes de chlore ;
- leur stabilité, leur moindre biodégradabilité ;
- leur liposolubilité, ce qui explique leur toxicité sur les cellules nerveuses.

Mécanisme d'action : ils agissent au niveau du système nerveux central, stimulent le système nerveux central, perturbent la conduction de l'influx nerveux et provoquent des convulsions de type épileptique.

Les organochlorés se divisent en trois groupes :

• **Le DDT et ses analogues :**

Le DDT (Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane : Zeidane®) : préparé pour la 1ère fois par Zeidane ; ces propriétés insecticides ont été mises en évidence par Muller en 1933;

• **Le HCH (Hexachlorocyclohexane) et son isomère (Lindane® ou Gammexane®)** ont pratiquement les mêmes utilisations que le DDT mais sont deux fois plus toxiques et deux fois moins rémanent que le DDT ;

• **Les Cyclodiènes dont la Dieldrine** avec une DL50 de 40-80 mg/kg de rat, jadis utilisée en poudre mouillable pour le traitement mural des habitations dans la lutte antipaludique, il est actuellement abandonnée en raison de la résistance développée par les insectes [35].

c-composés organophosphorés :

Ce sont des inhibiteurs de la cholinestérase [28]. Cette inhibition a comme conséquence l'accumulation de l'acétylcholine entre deux neurones; soit entre le neurone et les jonctions neuromusculaires ou synapses de muscle. Cette accumulation provoque la contraction rapide des muscles volontaires et entraînant finalement la paralysie [58]. Les organophosphorés sont généralement divisés en trois groupes : dérivés aliphatiques, phényliques et hétérocycliques. Les premiers composés comme le parathion étaient toxiques mais les dérivés modernes ont une toxicité faible pour les vertébrés homéothermes et les poissons. Ce sont de bons insecticides

• **Le Parathion** : commercialisé dès 1945, il a une DL50 de 4 à 15 mg/kg de rat. Largement utilisé en agriculture, il est également employé de même que son dérivé méthylé qui est le Fenitrothion comme larvicide en particulierité aux Etats-Unis.

- **Le Fenitrothion (Folithion®), Accothion®)** : peu toxique avec une DL50 de 250 à 500 mg/kg de rat, il est utilisé comme larvicide en concentré émulsionnable ou granulé et comme imagocide en poudre mouillable dans les campagnes antipaludiques.
- **Le Malathion (Carbophos®)** : peu toxique avec une DL50 de 1500 à 3000 mg/kg de rat, il est utilisé en traitements pariautaux (poudre mouillable), en nébulisation aérienne à faible volume (produit technique pur), ainsi qu'en poudre contre les ectoparasites.
- **Le Fenthion (Queletox®, Baytex®) et le Chlorpyrifos (Dursban®)** de toxicité moyenne (DL50 respectivement 200 et 150 mg/kg de rat) sont les produits de choix pour la lutte contre les larves de moustiques dans les eaux polluées où ils gardent une forte rémanence.
- **Le Temephos (Abate®, Bithion®)** : avec une DL50 = 2000 mg/kg de rat, il est larvicide des eaux claires, il peut être toxique pour les vertébrés et les invertébrés d'eau douce. Le Temephos est utilisé dans la lutte contre les larves de simuliés et d'*Aedes aegypti*. Il est très actif contre les larves d'*An.gambiae s.l.*
- **Le Dichlorvos ou DDVP** : avec une DL50 = 50 mg/kg de rat, se sublime spontanément et agit à l'état gazeux.
- **Le pirimiphos-méthyl (Actellic 50 EC) et l'Iodofenphos** n'ont eu jusqu'ici qu'un emploi limité comme larvicide et imagocide.
- **Bromophos (Brofème®)** : très peu toxique avec une DL50 de 3000 à 6000 mg/kg de rat.
- **Le Cyanophos (Cyanos®, Toritox®)** : activité insecticide très élevée et faible toxicité pour les mammifères avec une DL50 de 500mg/kg de rat.
- **Le Trichlorton (Tugon®, Neguvon®)** : peu toxique pour les mammifères avec une DL50 par voie orale de 450mg/kg.
- **Mevinphos (phosdrin®)** : très toxique pour les insectes en raison de sa grande volatilité.

d-Les carbamates :

Les carbamates sont des dérivés de l'acide carbamique. Ce sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Les carbamates sont peu utilisés en Santé publique à cause de leur coût élevé.

Mécanisme d'action : ils agissent par inhibition de la cholinestérase.

Dans l'organisme la cholinestérase a pour rôle d'inactiver l'acétylcholine dès sa libération du tissu nerveux. Elle l'empêche ainsi d'agir sur les muscles du squelette ou sur les viscères. L'intoxication par ces insecticides provoque un blocage irréversible de la cholinestérase et une

accumulation toxique d'acétylcholine causant une gêne respiratoire et un ralentissement cardiaque.

Les principaux composés sont :

- **Le propoxur (Baygon®)** : il est très efficace contre les insectes domestiques en particulier les blattes, il a souvent remplacé le DDT dans la lutte antipaludique notamment en Amérique centrale. Sa toxicité est faible (800 à 1000 mg/kg de rat).

- **Le carbaryl (Sevin®, Naftilo®)** : il a une toxicité modérée avec une DL50 par voie orale de 250 mg/kg de rat.

- **Le Méthiocarb (Mesurol®)** : insecticide d'ingestion et de contact.

Il a une DL50 par voie orale de 100mg/kg de rat.

- **Le carbofuran (Furadan®, Curater®)** : très toxique avec DL50 une par voie orale de 10 mg/kg de rat.

- **Le Bendiocarbe (Ficam®, Turcam®)** : qui est parmi les produits qui font l'objet de notre étude est très efficace contre les insectes domestiques en particulier les blattes.

e-Les Synergistes :

Ce sont des produits qui n'ont pas d'activité létale par eux-mêmes, mais qui ajoutés à certains insecticides augmentent leur activité en bloquant les mécanismes de détoxification de l'arthropode.

- **Le Butoxide de Pipéronyle** : est le plus connu des composés de ce groupe, il est utilisé en synergie avec les Pyréthrine naturelles, les Allethrine et quelquefois avec certains carbamates et organophosphorés.

f- Les analogues d'Hormones :

Ce sont les derniers-nés de la lutte chimique. Ce sont des analogues d'hormones d'insectes.

- **Un juvénoïde, le Méthoprène (Altosid®)**: analogue de l'hormone juvénile, il inhibe la nymphose. La larve meurt sans se nymphoser ou la nymphe meurt. Dans les cas les plus rares, l'adulte meurt au moment de l'émergence.

Ce composé agit seulement pendant la période qui précède immédiatement la nymphose.

Sa durée d'action étant courte, son application pose des problèmes de périodicité.

- **Le Diflubenzuron (Dimilin®)**: c'est un ecdysoïde. Il inhibe la sclérisation après les mues et entraîne donc la mort de la larve. Il peut être appliqué à tous les stades de la vie larvaire.

g-Insecticides végétaux : Pyrèthre et Pyréthriinoïdes :

Les propriétés insecticides du Pyrèthre (extrait de la fleur de *Chrysanthemum cineræfolium*) sont connues depuis 2000 ans en Chine. Il est actuellement cultivé sur les hautes terres d'Afrique orientale, des Andes, de Nouvelle Guinée et au Japon. La poudre était jadis utilisée comme antiparasitaire, mais le produit commercialisé est l'extrait de pyrèthre ou mieux ses composants actifs : les Pyréthrines. Ce sont des esters des acides chrysanthémiques et pyréthriques, des alcools, pyréthrolone et cinérolone.

Mécanisme d'action :

Les pyréthriinoïdes sont des molécules lipophiles agissant par contact après avoir pénétré la cuticule des arthropodes. Ces composés se fixent sur des récepteurs proches des canaux sodiques et modifient ainsi leur perméabilité. En prolongeant l'ouverture de ces canaux, la phase de dépolarisation du potentiel d'action est augmentée. Lors d'atteinte de motoneurons périphériques, ce mécanisme se manifeste par une phase d'excitation intense de l'insecte associée à une incoordination motrice. L'effet Knock Down (KD) correspond à une paralysie de l'insecte et ne se produit que lors d'atteinte des ganglions nerveux centraux en premier. Cette paralysie n'est pas générale car les insectes paralysés conservent une activité respiratoire non négligeable. Après un certain délai, les insectes paralysés peuvent récupérer leurs fonctions motrices. La réversibilité de la paralysie va dépendre de la dose reçue par l'insecte, un effet létal survenant au-delà d'une certaine dose d'insecticide.

Pyréthrines naturelles :

Elles provoquent une modification de la perméabilité de la gaine nerveuse aux ions K^+ et Na^+ et perturbent l'équilibre entre ces deux ions. Elles sont peu stables mais agissent très rapidement, produisant une immobilisation quasi immédiate de l'insecte « knock down ». C'est la raison de leur emploi dans les bombes insecticides à usage domestique.

Cependant, ces produits naturels étant onéreux et de production limitée ont été progressivement remplacés par des molécules synthétiques extrêmement actives : les Pyréthriinoïdes.

Pyréthrines de synthèses ou pyréthriinoïdes :

Les premières productions industrielles eurent lieu en 1950. Ces pyréthriinoïdes contenaient tous de l'acide chrysanthémique estérifié par des alcools.

Elles sont plus stables à la lumière, moins volatiles. Elles ont une haute activité insecticide qui permet leur utilisation comme insecticide en santé publique et en agriculture. Elles sont biodégradables et par conséquent ont des activités faibles sur les mammifères.

En 1973, toute une série de molécules photostables a été synthétisée. Parmi celles-ci, la Permethrine et surtout un composé bromé, la Dêcamêthrine (Decis®, K-Othrine®) sont très efficaces.

Selon la toxicité, les pyrêthriinoïdes sont repartis en deux séries.

-série I: Allethrine, Biopermethrine, Resmethrine, Permethrine et la Cismêthrine : donnent un syndrome se caractérisant par une augmentation de la sensibilité aux stimuli externes, tremblement du corps tout entier, une élévation de la température, une contraction musculaire, des convulsions pouvant conduire à la mort;

-séries II: Cypermêthrine, Decamêthrine, Somicidine : provoquent un syndrome se traduisant par une hypersalivation, une mastication, un lèchement, un tremblement généralisé, une hyperactivité motrice et une contraction musculaire.

Les insecticides recommandés par le PNLP du Mali sont:

- **Permethrine:** C'est un pyrêthriinoïde de synthèse commercialisé sous des noms différents tels que Talcord, Permanone, Permetine, Atroban etc...

Elle est inodore, indélébile. C'est un insecticide répulsif et à action immédiate, il agit par contact et par ingestion. L'immersion, la pluie, la chaleur, le contact avec la peau humaine n'altèrent pas ses propriétés insecticides de façon immédiate.

- **Deltamêthrine :** qui fait l'objet de notre étude est aussi un pyrêthriinoïde de synthèse, commercialisé sous le nom de K-Othrine.

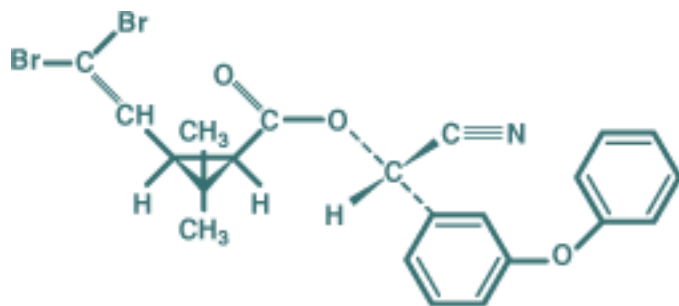
- **Lamdacyhalothrine :** quant à elle, plus toxique que la permethrine et la deltamêthrine, est le troisième choix du PNLP. Contrairement à la Permethrine et à la Deltamêthrine, la Lamdacyhalothrine n'imprègne pas tous les tulles synthétiques ; en plus, il possède une plus forte odeur et est plus toxique que la deltamêthrine.

C- Monographie des insecticides étudiés pour cette étude

1-K-Othrine® WG 250 (Deltamêthrine 250g/kg)

La K-Othrine® WG 250 est un pyrêthriinoïde de synthèse, insecticide qui agit sur le canal sodium voltage, modifie la cinétique d'ouverture du canal induisant la paralysie de la fibre nerveuse. Elle a une action rapide (effet knockdown ou KD), un fort effet excito-répulsif et une faible toxicité pour les mammifères [22]. C'est un adulticide utilisé pour le traitement résiduel au niveau des habitations humaines mais peut être utilisé aussi dans l'imprégnation des supports tels que les grillages, les rideaux, les mûrs, etc.....

1-1-Structure de la Deltamêthrine (C₂₂H₁₉Br₂NO₃)



(1R, 3R)-3(2, 2-Dibromovinyl)-2, 2-dimethyl-cyclopropane carboxylate de (S)- α -cyano-3-phénoxybenzyle.

Source : [Fr.wikipedia.org/wiki/Deltaméthrine](http://fr.wikipedia.org/wiki/Deltaméthrine) Le 15-12-2010

1-2-Propriétés physico-chimiques

Le produit se présente sous forme de granule dispersible dans l'eau, de couleur beige.

pH : 2– 4 à 100g/l.

Masse volumique apparente : 0,63-0,73 kg/m³

Solubilité dans l'eau : Dispersible

Stabilité : Stable dans des conditions normales

Conditions à éviter : Températures extrêmes et lumière du soleil directe.

Réactions dangereuses : Pas de réactions dangereuses si les prescriptions de stockage et de manipulation sont respectées.

Autres informations : Le produit n'est pas combustible

1-3-Conditionnement :

La K-Othrine[®] WG 250 est emballée dans des sachets à dose unitaire de 20g.

1-4-Toxicité de la K-Othrine[®] WG 250

Toxicité orale aiguë DL50 (rat) >3,465 mg/kg

Toxicité dermale aiguë DL50 (rat) >2,090 mg/kg

Toxicité par inhalation CL50 (rat) >1,474-<4,062 mg/l

1-5-Usages

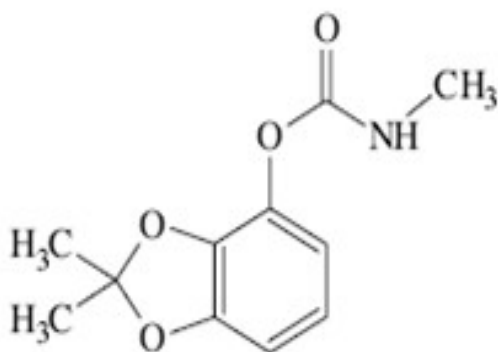
Utilisé en aspersion de manière à obtenir une couverture égale de tous les murs et plafonds des maisons, ainsi que sous les toits extérieurs et de tous les bâtiments extérieurs comme étables ou autres abris pour animaux. Pour un contrôle efficace, toutes les habitations dans une région devraient être traitées. Tout traitement doit être fait juste avant la saison de transmission du paludisme.

Là où le produit est utilisé pour le contrôle de moustiques adultes, il servira également à contrôler les cancrelats, les punaises et les mouches qui pourraient être présents dans les habitations.

2-Ficam[®] VC (Bendiocarbe 800 g/kg)

Le Ficam[®] VC (Bendiocarbe) est un insecticide de la famille des carbamates qui agit sur la transmission nerveuse en inhibant l'acétylcholinestérase. Il est utilisé dans le contrôle de la résistance aux insecticides. C'est également un adulticide utilisé pour le traitement résiduel au niveau des habitations humaines et pour l'imprégnation des supports (grillages, rideaux et mûrs, etc..).

2-1-Structure du Bendiocarbe C₁₁H₁₃NO₄



N-méthylcarbamate de 2,2-diméthyl-1,3-benzodioxol-4-yle

2-2-Propriétés physico-chimiques

Le Ficam[®] VC se présente sous forme de poudre mouillable, de couleur beige et de faible odeur caractéristique.

Masse volumique apparente : environ 250 kg/m³

Solubilité dans l'eau : miscible

Stabilité : Stable dans des conditions normales

Conditions à éviter : Températures extrêmes et lumière du soleil directe.

Réactions dangereuses : Pas de réactions dangereuses si les prescriptions de stockage et de manipulation sont respectées.

Autres informations : Solide combustible

2-3-Conditionnement :

Le Ficam® VC est emballé en sachet hydrosoluble à dose unitaire de 125 g

2-4-Toxicité du Ficam® VC

Toxicité orale aiguë DL50 (rat) : 179 mg/kg

Toxicité dermale aiguë DL50 (rat) >2000 mg/kg

Toxicité aiguë par inhalation CL50 (rat) : 0,313 mg/l

2-5-Usages :

Ficam® VC formulé en sachet hydrosoluble est dispersible dans l'eau. Facile à utiliser, un sachet convient pour un pulvérisateur de 10 litres et permet de traiter une superficie de 250 m². Le Ficam® VC est destiné aux traitements résiduels de surface. Il est particulièrement recommandé pour lutter contre les puces, les punaises des lits, les fourmis et les guêpes. Son large spectre d'efficacité permet également une utilisation contre tous les types d'insectes tant rampants que volants aussi bien à l'intérieur des habitations que des entrepôts industriels.

Le Ficam® VC sera utilisé dans les cas où il y a nécessité à alterner le produit de traitement. En effet sa matière active, le Bendiocarbe (carbamate) est le seul de cette famille actuellement sur le marché de l'hygiène publique.

4-3-Lutte contre le paludisme au Mali

Axes stratégiques :

La chimioprévention :

Le médicament pour le traitement préventif intermittent reste la Sulfadoxine-Pyriméthamine, administrée sous observation directe au cours des consultations prénatales et cela gratuitement.

La lutte antivectorielle

Elle a pour but de réduire voire de supprimer la transmission du paludisme - par la promotion de l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide qui sont distribuées gratuitement aux femmes enceintes au cours de la consultation prénatale et aux enfants de moins de cinq ans après la vaccination anti rougeoleuse ou au cours de la consultation des enfants malades et sains.

-par la pulvérisation intra et extra domiciliaire, la promotion de l'hygiène et de l'assainissement.

Prise en charge des cas

- Traitement du paludisme simple: il fera appel à des CTA (combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine) après confirmation du diagnostic par le laboratoire ou à partir des tests de diagnostic rapide. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont pris en charge gratuitement.

- Traitement du paludisme grave et compliqué: la quinine reste le seul médicament; toute femme enceinte présentant un accès devra être traitée par la quinine.

La communication: chaque stratégie de lutte contre le paludisme comportera un volet IEC spécifique. Seront développés les plaidoyers en direction des leaders politiques et des partenaires, la mobilisation sociale en direction de tous les intervenants, la communication pour le changement de comportement.

Les recherches opérationnelles accompagneront la mise en œuvre de la nouvelle politique :

-pharmacovigilance des antipaludiques ;

-suivi de la qualité, de la distribution et de l'utilisation correcte des médicaments et des tests de diagnostic rapide ;

- suivi de l'efficacité des médicaments et insecticides ;

- suivi de l'efficacité des procédures de prévention chez la femme enceinte et l'enfant de moins de 5 ans ;

5- La résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides

5-1- Définition

La résistance peut être définie comme la faculté pour un organisme donné de survivre à des doses de produit toxique qui auraient dû normalement le tuer. Il s'agit d'un caractère héréditaire sous la dépendance de gène qui se transmet de génération en génération et évolue au cours du temps [31]. Cette résistance est dite croisée lorsqu'elle touche plus d'un insecticide n'appartenant pas à la même famille [32].

5-2- Historique de la résistance

Entre 1950 et 1960, l'OMS entreprit une vaste campagne de lutte antivectorielle basée sur l'utilisation des insecticides : DDT et Dieldrine en pulvérisation intra domiciliaire. Cette campagne a abouti à une sélection de la résistance au sein de la population vectrice. C'est ainsi que les premiers cas de résistance à la Dieldrine ont été notés au Burkina Faso et dans le

nord du Bénin [33]. La même année, la résistance d'*An. gambiae* au DDT a été annoncée par la même équipe.

Devant cette nouvelle réalité, il y a eu un recours aux pyréthrinoïdes en santé publique dans la lutte antivectorielle et en agriculture pour la protection des cultures. Ce qui entraîna à la longue à la sélection de souches résistantes au sein de la population vectrice.

En Afrique de l'Ouest, les premiers cas de résistance d'*An. gambiae* aux pyréthrinoïdes en général et en particulier à la Perméthrine ont été observés à Bouaké en Côte d'Ivoire par Elissa et coll. [21] et par Guillet et coll. [30] qui ont rapporté que la résistance serait en partie un héritage de l'utilisation antérieure du DDT ; ce qui expliquerait l'existence d'une résistance croisée entre le DDT et les pyréthrinoïdes car les deux ont le même site d'action.

Des cas de résistance aux pyréthrinoïdes ont été également rapportés : au Kenya dans une zone où les moustiquaires imprégnées de Perméthrine étaient utilisées [57], au Bénin [3], au Burkina [16] et en Afrique Occidentale [8]. Au Mali, des cas de résistance à la Dieldrine ont été décrits en zone de savane chez *An. gambiae s.l.* et *An. funestus* et en 1998, une étude a révélé qu'*An. gambiae* était résistante à la Cyfluthrine avec un taux de mortalité maximale de 72,7%. Elle était sensible au DDT, à la Perméthrine, à la Deltaméthrine, à la Lambdacyhalothrine et à la Cyfluthrine [54].

Fanello et coll., en 2000 ont trouvé une fréquence du gène *kdr* de 83% à Pimpéréna et de 62,1% à Banambani.

Diarrassouba en 2002 a rapporté une fréquence de 100% du gène *kdr* chez les moustiques (forme Savane) ayant survécu aux tests de sensibilité à Pimpéréna. En 2003, pour la première fois au Mali, Adamou a observé le gène *kdr* chez les formes chromosomiques Mopti en zone de savane (Donéguébougou à 25 km de Bamako).

5-3- Mécanismes de résistance

Pour que l'insecticide remplisse son rôle, il faut qu'il entre en contact avec l'insecte, qu'il pénètre dans la cavité générale de ce dernier et qu'il atteigne sa cible (site d'action). Tout mécanisme qui limite ou empêche une de ces étapes sera considéré comme un mécanisme de résistance. On peut classer ceux-ci en trois catégories :

5-3-1- Résistance comportementale

Dans ce cas l'arthropode évite tout contact avec l'insecticide. Ce type de comportement est très souvent dû à l'effet excito-répulsif de l'insecticide et n'a pas de rapport avec une modification génétique [50].

5-3-2- Résistance par modification de l'absorption et de l'excrétion des insecticides

Il s'agit ici d'une augmentation de l'activité catalytique et/ou de la quantité des enzymes intervenant dans la dégradation normale des insecticides [50].

5-3-3- Résistance par modification du site d'action

Cette dernière semble être plus fréquemment rencontrée surtout en Afrique Subsaharienne [30].

La modification peut concerner la transmission de l'influx nerveux au niveau des nerfs eux-mêmes. C'est le cas de la résistance croisée aux pyréthrinoïdes et au DDT. Cette résistance est due à la fois à la modification des canaux sodiques voltages dépendants et à la réduction de leur nombre.

Ce type de résistance est sous la dépendance d'un gène baptisé « gène *kdr* », car il confère une résistance à l'effet « knock-down » aux individus qui le portent. Ce gène est fréquemment rencontré chez la mouche domestique sous le nom de « super gène ». Le gène *kdr* se caractérise par une diminution de l'affinité entre les canaux sodiques et les insecticides.

Le DDT et les pyréthrinoïdes agissent sur les insectes en ralentissant l'inactivation des canaux et induisent une décharge répétitive de potentiel d'action entraînant une paralysie des nerfs.

Le site cible de la mutation *kdr* est la partie du gène codant le domaine IIS4-IIS6 du canal sodique. La mutation *kdr* la plus courante en Afrique de l'Ouest est la substitution de la Leucine (TTA) par la Phénylalanine (TTT). Il existe une autre substitution : Leucine (TTA) Sérine (TCA) rencontrée en Afrique de l'Est.

6-Définition de la rémanence :

La durée de rémanence d'un produit est la période pendant laquelle ce produit reste efficace, la durée de rémanence d'un insecticide sur le mur est la période durant laquelle l'insecticide reste efficace contre le moustique.

7-Polymerase Chain Reaction (PCR) :

Principe de la PCR

Cette technique consiste à copier jusqu'à un milliard de fois le fragment de génome que l'on désire étudier en utilisant le principe de la duplication observé *in vivo* dans la cellule : la duplication de l'ADN dans la cellule a lieu juste avant la mitose sous l'action d'une enzyme ; l'ADN polymérase.

Après séparation des deux brins complémentaires (dénaturation), les fragments d'ADN ou amorces s'apparient à leur séquence complémentaire au niveau de chaque brin d'ADN. L'ADN polymérase ajoute des nucléotides à chaque amorce aboutissant à la formation d'une copie

complémentaire de chaque brin d'ADN. On obtient ainsi deux nouvelles molécules d'ADN identique à la molécule initiale : on parle de polymérisation.

La PCR utilisée repose sur le même principe, à la différence qu'elle utilise deux amorces sous formes de brin simple d'ADN. Cette technique comprend trois étapes principales :

- la dénaturation de l'ADN qui se fait à des températures variant entre 90 et 97°C pendant 15 à 30 secondes.
- l'hybridation des amorces qui a lieu entre 50 et 70°C,
- l'extension des amorces sous l'action des ADN polymérases. Au cours de cette phase, la température est portée à 72°C. Cette température favorise l'ouverture de la double hélice d'ADN. L'ADN polymérase thermostable : la taq polymérase ajoute des nucléotides. Cette enzyme est tirée d'une bactérie Archéobactérie, *Thermus aquaticus* vivant dans les sources thermales entre 80 et 90°C [37].

IV-METHODOLOGIE

1-Lieu d'étude :

L'étude a été effectuée dans la commune IV du district de Bamako.

Le District de Bamako est situé entre le 12°38' de latitude Nord et le 7°59' de longitude Ouest, avec une altitude de 381 m à partir du sol de l'aéroport de Bamako-Sénou. Il s'étend de l'Ouest en Est sur 22 km et du Sud au Nord sur 12 km pour une superficie de 267 km².

Le District de Bamako est divisé en six communes par l'ordonnance du 18 août 1978 modifiée par la loi de février 1982.

Pour cette étude, les quartiers de Taliko et de Djicoroni-Para qui ont des environnements propices au développement des Anophèles ont été choisis.

Située dans la partie Ouest de Bamako, la commune couvre une superficie de 37,68K m² soit 14,11% de la superficie du district de Bamako (18.000ha) pour une population de 300.085 habitants [46], soit une densité de 7964/km².

Elle est limitée :

- Au Nord-Est par la commune III,
- A l'Ouest par la commune du Mandé (cercle de Kati),
- Au Sud par le fleuve Niger.

1-1-Historique de la population de la commune IV

L'histoire de la commune IV se confond presque à celle de la ville de Bamako. La commune IV est constituée de huit (08) quartiers qui sont des entités distinctes les unes des autres par leur mode de peuplement et par certain mode de vie.

A l'origine, le peuplement de la commune a commencé à Lassa situé au Nord-est de la commune. Il fut fondé vers le XVIII^e siècle par les Camara originaires de Siby.

Sibiribougou, fondé vers le XIX^e siècle par Sibiri Camara en provenance de Siby en compagnie d'autres transfuges.

Kalabambougou situé au bord du fleuve Niger fut fondé vers 1860 par les Camara en provenance de Coursalé pour échapper aux exactions d'Almamy Samory Touré.

Taliko a été fondé vers 1860 par Mariko Traoré venu de Sanakoroba.

C'est vers le XIX^e siècle que fut fondé Djicoroni-Para par Laye Diakité qui demanda l'hospitalité aux Niarés, famille fondatrice de Bamako.

Sébénikoro, crée vers 1910 par des fugitifs originaires du Beledougou dont Fodeba Sangaré, Moriba et Diallo auxquels les familles Touré et Niaré ont accordé l'hospitalité.

Hamdallaye a été crée vers 1948 par Edmond Louveau, Gouverneur du Soudan français dans la mise en œuvre de sa politique de désengagement des quartiers du centre -ville de Bamako.

Lafiabougou a été crée en 1961 par les autorités de la 1^{ère} République du Mali pour loger les habitants de Bamako restés sans habitats et ceux refoulés du Congo-Zaïre.

Ces quartiers sont administrés par des autorités coutumières qui sont les chefs de quartiers. Ceux-ci sont soit nommés par l'autorité administrative régionale sur proposition des notables du quartier, guidés eux même par le coefficient de valeur du candidat, soit simplement désignés par ces mêmes notables ou élus par les populations. Ils sont assistés dans leurs tâches par des conseillers qu'ils nomment après consultations des populations.

Les conseillers sont choisis suivant les aires géographiques. Ainsi certains quartiers sont divisés en secteurs et /ou comprennent des zones spontanées dont la prolifération croit à un rythme galopant. Cette prolifération des quartiers spontanés met en péril le développement de la commune puisque ces zones ne sont pas équipées pour répondre aux besoins des populations, besoins que l'administration communale et les différents partenaires au développement essaient difficilement de satisfaire.

1-2-Le relief :

La commune IV repose sur le socle granitique et schisteux du précambrien, recouvert par une couverture sédimentaire de grès. Elle est entièrement située dans un vaste ensemble morphologique du plateau Mandingue. Le relief est dominé par quelques collines qui se situent dans sa partie Ouest et Nord notamment le Lassa koulou, le Koulouni yèlèko et le Koko koulou qui sont des formations gréseuses constituant les dernières marches des Mandingues et la vallée du Niger (Sibiribougou, Kalabambougou, Sébénikoro). Ces collines constituent des contraintes naturelles pour l'accessibilité de certains quartiers comme Lassa.

1-3-Le climat :

La commune IV est située entre les isohyètes 700 à 1300 mm. Le relief est peu marqué pour influencer la circulation de la basse atmosphère.

Le climat est de type soudanien marqué par l'alternance d'une saison pluvieuse appelée hivernage avec une pluviométrie comprise entre 800 et 1200 mm/an et d'une saison sèche.

La saison des pluies s'étend sur 5 mois de Juin à Octobre. C'est la période de transmission intense du paludisme. La température et l'humidité influent directement sur la densité des larves et la fécondité.

Une saison sèche repartie en deux périodes : une période froide (de novembre à janvier) et une période chaude (de février à mai). La saison sèche limite la prolifération des anophèles par réduction du nombre de gîtes.

1-4-L'hydrographie :

La commune est traversée au sud par le fleuve Niger, au centre par la rivière Woyowayanko. La rivière de Farako ou Diafaranako tire sa source des collines de Lassa pour aboutir au fleuve Niger. Il y a également le Souroutoumba de Sibiribougou.

Les berges du fleuve et des rivières de la commune sont des gîtes larvaires favorables pour les anophèles. Les autorités compétentes doivent tenir compte de l'aménagement de ses rivières et des berges du fleuve qui permettra d'atténuer le phénomène.

1-5-Végétation :

La commune IV reste relativement riche en arbres malgré l'intense urbanisation des quartiers. Jadis zone d'agriculture périurbaine, la commune recèle des reliques de nombreux anciens vergers. Elle est parsemée de bosquets de vieux arbres fruitiers. Les espèces d'arbres fruitiers qu'on y rencontre sont essentiellement les agrumes et les manguiers.

La commune est caractérisée par la présence des vergers et des arbres d'ombrage et d'ornement dont notamment : Neem, Gmelin, Cocotier, Eucalyptus, Filao, Ficus benjamina, Caïlcédrat, karité, et rônier.

Les cultures maraîchères qui occupent le lit majeur du fleuve sont accompagnées de quelques ligneux. La commune héberge de nombreux espaces verts notamment celui de Sébénikoro qui a une superficie de 17 000 m².

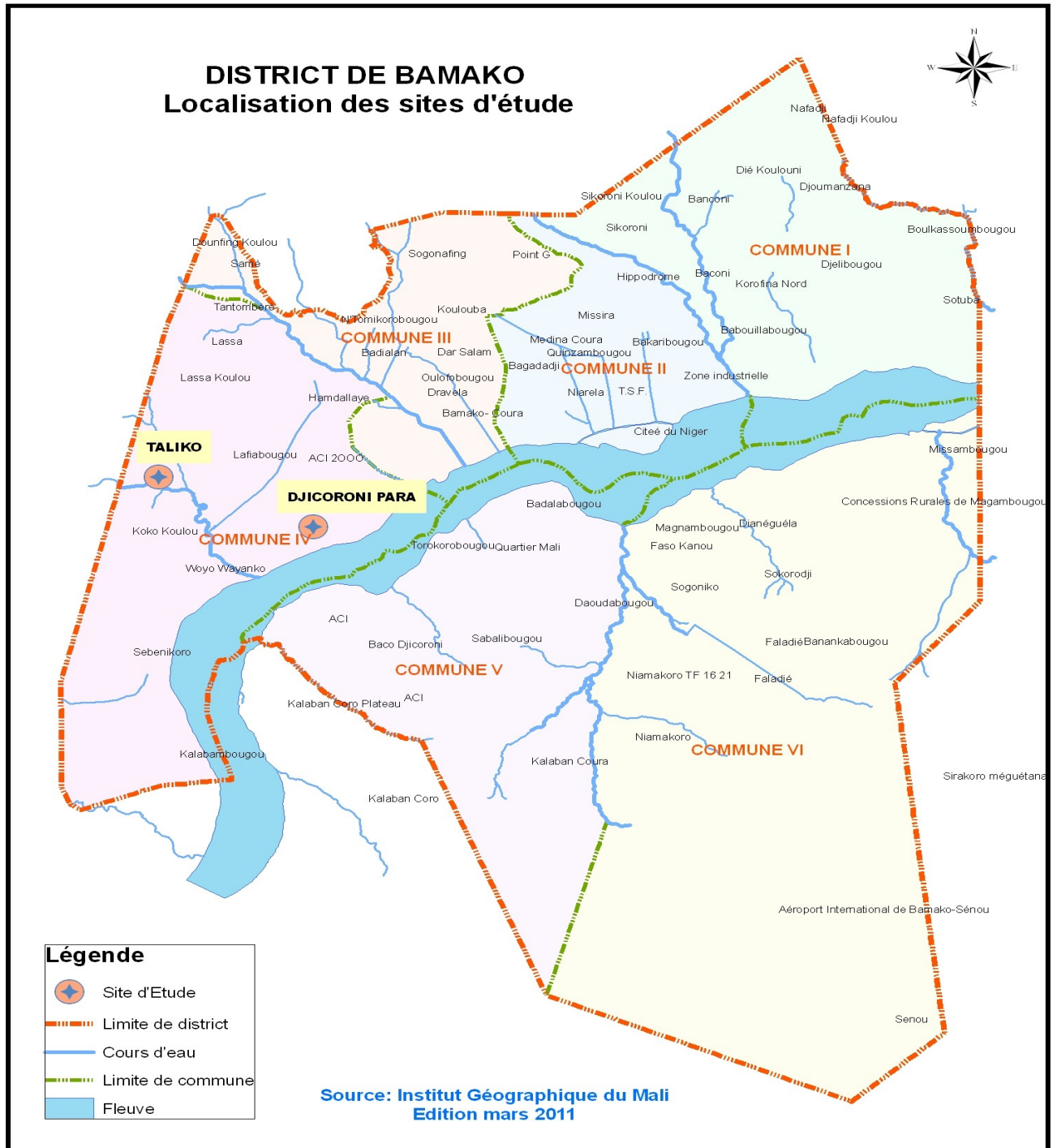


Figure 2 : Carte du district de Bamako avec les sites d'étude (IGM, 2011).

2-Période de l'étude :

L'étude a été réalisée de février 2009 à août 2010 qui s'étend de la période sèche au milieu de l'hivernage.

3-Enquête Entomologique avant la PID.

3-1-Prospection des gîtes larvaires :

En début du mois de février 2009 une prospection des retenues d'eaux a été faite dans 4 quartiers de la commune IV du district de Bamako : (Djicoroni Para, Hamdalaye, Taliko et Sébénikoro).

Des gîtes larvaires de moustiques ont été identifiés à Djicoroni, Taliko et Sébénikoro où des larves d'Anophèles et de Culex ont été collectées, transportées au laboratoire (Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée) pour l'identification morphologique des espèces et la détermination de la densité larvaire.

Suite à cette prospection, deux quartiers Djicoroni Para et Taliko ont été choisis pour la PID :

- Taliko : 33 concessions dont 6 concessions témoins (**site 1**).
- Djicoroni Para : 28 concessions dont 6 concessions témoins (**site 2**).

Soixante une (61) concessions au total ont été choisies sur les 2 sites en fonction de la présence de gîtes larvaires potentiels permanents ou semi permanents (mares, bas fonds, puits, trous creusés par les maraîchers).

Les concessions témoins ont été choisies sur la base du protocole de l'OMS [60]. Les concessions pulvérisées étaient distantes des témoins d'environ 100 m.

3-2-Captures de moustiques

Deux jours de captures ont été faits à Djicoroni Para et à Taliko avec des pièges CDC à l'intérieur et l'extérieur des concessions (5 concessions par quartiers) de 18h à 06h du matin. Des pulvérisations et captures ont été réalisées de 06h à 08h dans ces concessions. Les moustiques capturés ont été transportés au laboratoire pour l'identification morphologique des espèces avec la clé de Diagne et coll. [17] et l'estimation de la densité des populations de moustiques.

3-2-1-Capture avec les pièges CDC :

Matériel :

Piège lumineux CDC pourvu d'une lampe à incandescence

Batteries

Supports

Technique de capture:

Les pièges placés à 1,5 m du sol sont pourvus d'une lampe qui attire les moustiques et d'un système de ventilation qui propulse ces moustiques vers une nasse où ils restent emprisonnés. Ces pièges lumineux sont placés à l'intérieur et à l'extérieur des chambres.



Figure 3 : Piège de type CDC dans la cours d'une concession



Figure 4 : Piège de type CDC dans la chambre d'une concession.

3-2-2-Spray catch :

Matériel :

Draps blancs,
Bombes insecticides (Total),
Pinces souples,
Boîte de pétri (VWR, pétri Dish, Size : 100x15mm),
Masque (ROBE médical s.a),
Coton,
Gobelets,
Fiches de collecte,
Marqueurs (OHPen Universal).

Technique de collecte :

Des précautions particulières sont prises avant l'aspersion d'insecticide. Tout en évitant de trop déranger les moustiques endophiles, la préparation des pièces suppose l'enlèvement des

aliments, des petits objets et meubles, couvrir les ouvertures avec chiffons ou draps, fermer les portes et fenêtres.

La collecte après pulvérisation d'une solution de pyréthriinoïdes dans les chambres, permet de collecter les moustiques qui y sont au repos. Des draps blancs sont étalés pour recueillir les moustiques assommés par l'insecticide pulvérisé dans la pièce. Après une dizaine de minutes d'attente, les draps sont soigneusement sortis puis les moustiques sont collectés et placés à l'aide de pinces souples dans les gobelets ou des boîtes de pétri dont le fond est garni d'une couche de coton imbibé d'eau (pour éviter la dessiccation). Des indications précises sont notées concernant le lieu, la date de collecte, le numéro de la concession et le numéro de la pièce, etc. Les femelles sont regroupées par espèce puis dénombrées. Les femelles de vecteurs sont ensuite classées selon leur état physiologique en femelles à jeun, gorgées, gravides et semi-gravides. Les résultats permettent d'apprécier les comportements de repos des vecteurs, d'estimer la densité par case des femelles de vecteurs.

4-Pulvérisation intra domiciliaire :

Les insecticides ont été octroyés par Bayer Environmental Science.

4-1-Dilutions des insecticides :

Le volume d'insecticide utilisé pour la pulvérisation dépend des surfaces.

➤ K-Othrine® WG 250 :

-pour la pulvérisation des surfaces poreuses (banco), nous avons dilué 20 g (1 sachet) dans 10 litres d'eau pour pulvériser une surface de 250 m² ;

-pour la pulvérisation des surfaces non poreuses (ciment, peinture), nous avons dilué 20 g (1 sachet) dans 5 litres d'eau pour pulvériser une surface de 250 m².

➤ Ficam® VC :

Pour pulvériser une surface de 250 m², nous avons utilisé 400 g de matière active par m², soit 125 g, (1sachet) dans 10 litres d'eau.

4-2-Description du pulvérisateur

Le pulvérisateur que nous avons utilisé était de la marque HUDSON (HONG KONG) ayant une capacité de 11,3 litres. Ce pulvérisateur est composé d'un réservoir, une courroie, un couvercle, une pompe, un manomètre, une lance, un épurateur, un tuyau, une buse, un déclencheur et un repose-pied.

Avant la pulvérisation le premier acte consiste à la lecture de l'étiquette du fabricant, suivie de l'application des consignes d'utilisation du produit et tout particulièrement des instructions spécifiques touchant aux questions de sécurité. Les instructions suivantes ainsi que

l'équipement décrit ci- après constituent des normes de sécurité fondamentales à appliquer lors de toute pulvérisation rémanente intérieure :

-on ne doit pas manger, fumer ou boire pendant une pulvérisation,

-lorsqu'on pulvérise le plafond ou de hauts murs, il faut faire attention à ne pas s'exposer soi-même à la pulvérisation,

-l'équipement de base est le suivant : casque, lunettes, masque, bleu de travail, gants et bottes.

4-3-Aspersions des insecticides :

La K-Othrine® WG 250 a été utilisée pour pulvériser les 22 concessions de Taliko (site 1), par contre pour les 27 concessions de Djicoroni Para (site 2) nous avons utilisé le Ficam® VC.

Les insecticides ont été appliqués (aspersion/ pulvérisation) sur les surfaces intérieures des murs, plafonds ou toits des habitations et autres structures entre le 10 et le 15 mars 2009. Ils ont été standardisés pour faire une application uniforme et régulière afin d'obtenir la dose souhaitée de solution et de matière active par unité de surface.

Les concessions (pulvérisées et non pulvérisées) ont été visitées par l'équipe le lendemain, le jour 3 et le jour 7 du premier mois de la pulvérisation, puis une fois par mois pendant 6 mois de suivi. Les cas de malaise ou d'intoxication éventuelle par ces produits ont été pris en charge par l'équipe médicale du LBMA/FAST/UB.

5-Enquête entomologique après la PID :

5-1-Captures de moustiques

Des séances de capture de moustiques ont été faites durant 3 jours avec les pièges de type CDC de 18h à 06h du matin et des collectes de moustiques après pulvérisation d'insecticide de 06h à 08h dans les concessions (pulvérisées et témoins) sur les deux sites en raison de trois chambres par jour une semaine, douze semaines, seize semaines, vingt semaines et vingt quatre semaines après la PID.

Les moustiques capturés ont été transportés au laboratoire pour l'identification morphologique des espèces avec la clé de Diagne et coll. [16] et l'estimation de la densité des populations de moustiques.

5-2-Bioessais :

Il s'agissait d'examiner la sensibilité des anophèles femelles aux insecticides.

Les moustiques qui ont servi pour les tests provenaient d'une souche locale d'*An. gambiae s.l.*, originaire du Mali maintenue à l'insectarium du Malaria Research and Training Center (MRTC) de Bamako.

Nous avons utilisé des femelles d'Anophèles âgées de 2 à 5 jours n'ayant jamais pris de repas de sang.

Environ 730 moustiques ont été testés sur les murs des concessions pulvérisées une semaine, douze semaines, seize semaines, vingt semaines et vingt quatre semaines après la PID. Les moustiques exposés aux murs des concessions non pulvérisées ont été considérés comme des témoins [60].

Matériels :

- cônes OMS transparents en plastiques,
- ruban adhésif pour fixer le cône (MAC mount),
- tubes d'aspiration courbés et droits du type Mario Coluzzi,
- petits clous,
- coton,
- gobelets de 10 ml en carton fermés par un tulle moustiquaire,
- élastiques,
- marqueurs (OHPen Universal),
- cages de moustiques,
- caisse en bois aérée (percée de grands trous),
- serviettes.

Les cônes pour les concessions tests sont marqués d'un trait rouge pour les distinguer de ceux des concessions témoins (marque verte). Il en est même des aspirateurs.

Mode opératoire

- garnir le bord du cône de ruban adhésif,
- fixer le cône avec les petits clous sur la surface traitée,
- transférer 10 moustiques dans chaque cône et fermer le cône avec un tampon de coton,
- après 30 minutes d'exposition, retirer prudemment avec l'aspirateur les moustiques et les transférer dans des gobelets séparés par cônes et étiquetés,
- le taux de *KD* (moustique foudroyé) a été noté à intervalle régulier ou après 30 et 60 mn avec la K-Othrine® WG 250,
- placer un tampon de coton imbibé de solution sucrée à 10% sur le tulle de chaque gobelet, ranger les gobelets dans la caisse aérée et les recouvrir d'un linge humide,
- les moustiques ont été ensuite placés en observation dans l'obscurité pendant 24h dans une étuve maintenue entre 26 et 28°C avec une humidité comprise entre 70 et 80% au LBMA,

- après ce délais, le nombre d'individu mort a été compté (le taux de mortalité a été calculé en divisant le nombre de moustique mort par le nombre total de moustique exposés aux insecticides x 100).

Les témoins dont les taux de mortalité étaient compris entre 5% et 20% ont été corrigés par la formule d'Abott [62]. Au delà de 20% de mortalité le test a été repris.

Formule d'Abbot [62] :

$$Mc = \frac{(\%Me - \%Mt) \times 100}{100 - \%Mt}$$

Mc=Mortalité corrigée ; **Me** = Mortalité d'épreuve ; **Mt** = Mortalité au niveau des témoins

Les recommandations de l'OMS quant à l'interprétation des résultats sont les suivantes [41]:

98-100% de Mortalité : **Sensible**

80-97% de Mortalité : **Résistance possible à confirmer**

< 80% de Mortalité : **Résistance probable**

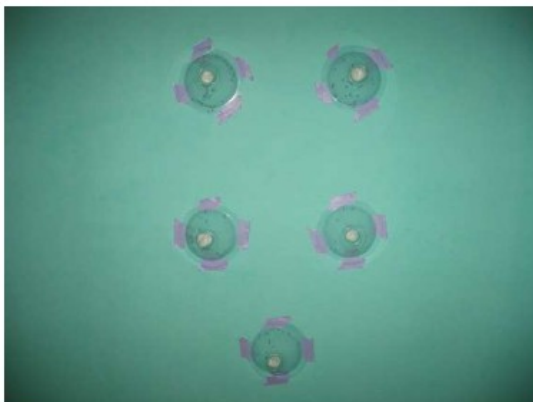


Figure 5 : Cônes OMS sur le mur d'une chambre pulvérisée avec des femelles d'*An. gambiae s.l.*



Figure 6 : Moustiques testés en observation dans les gobelets avec du jus sucré au LBMA/FAST/UB

6-Etude moléculaire de la population vectrice

Des échantillons de moustique collectés ont été traités au laboratoire :

- l'identification des membres du complexe *An. gambiae* a été faite par la PCR selon les protocoles décrits par Scott et coll. [47] et celle des formes moléculaires M et S d'*An. gambiae s.s* selon la méthode décrite par Favia et coll. [27];

- La recherche du gène de résistance aux insecticides : La mutation *Kdr* **Leu-phe** responsable de la résistance aux Organochlorés et Pyréthriinoïdes a été recherchée par PCR (diagnostic) selon le protocole décrit par Martinez-Torres et coll. [40].

6-1-Technique d'extraction de l'ADN :

Nous avons disséqué les pattes et les ailes de moustique qui contiennent moins de protéines, procéder à leur centrifugation à 14000 t/mn pendant deux minutes.

Cette centrifugation a pour but de réunir les pattes au fond du tube.

Nous avons ajouté 25 µl du tampon d'écrasement « Fly grinding buffer » (0,1M de NaCl; 0,2M sucrose; 0,1M de Tris-HCl, pH 9,2; 0,05 M EDTA pH 8; 0,5% SDS) qui rend les pattes molles et nous avons écrasé à l'aide d'un pilon stérile électrique jusqu'à la disparition complète des fragments, puis rincer le pilon avec 25 µl de la même solution.

Le tube a été placé au bain-marie à 65 °C pendant 45 mn pour inhiber l'activité des enzymes pouvant détruire l'ADN.

Nous y avons ensuite ajouté 7 µl d'acétate de potassium (8 mole) et laisser incuber sur de la glace pendant 30 mn. Cette étape permet de précipiter les protéines.

Après les 30 mn à 4°C, nous avons centrifugé le mélange à 14000t/mn pendant 15 mn pour obtenir uniquement l'ADN surnageant.

Le surnageant a été récupéré dans un nouveau tube eppendorf contenant déjà 100 µl d'éthanol à 100%. Après avoir bien mélangé, nous avons laissé agir l'éthanol à la température ambiante pendant 5 mn. L'ajout de l'alcool a pour but de précipiter l'ADN au fond du tube.

Pour obtenir un culot d'ADN, nous avons centrifugé la suspension à 14000t/mn pendant 15 mn pour ensuite verser l'éthanol à 100% et ajouter à nouveau 100 µl d'éthanol à 70% pour laver l'ADN.

Le tube a été de nouveau placé dans la centrifugeuse à 14000t/mn, mais cette fois-ci pendant 5 mn, puis l'éthanol 70% a été versé et enfin le culot d'ADN a été séché à la température ambiante.

L'ADN a été suspendu avec 100 µl d'une solution de TE (Tris-EDTA) et gardé à -20 °C jusqu'à l'utilisation.

6-2-Dosage spectrophotométrique et vérification de pureté.

Après avoir extrait l'ADN nous l'avons quantifié et contrôlé sa pureté à l'aide d'un spectrophotomètre (Bio photometer, Eppendorf).

Une dilution au dixième a été faite par échantillon en mettant 10 μ l d'échantillon avec 90 μ l d'eau ultra pure de grade moléculaire.

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon on l'a transféré dans une microcuve puis on l'a introduit dans le spectrophotomètre pour lire la concentration et l'absorbance entre 260nm et 280nm.

Le spectrophotomètre donne la concentration en μ g/ml calculée à partir de la loi de Bert Lambert et le rapport de l'absorbance 260 nm sur 280 nm.

Le pic d'absorbance des acides nucléiques est de 260 nm et celui des protéines est de 280 nm. Le rapport nous permet de déterminer la pureté de l'échantillon (le rapport optimal est compris entre 1,7 et 2).

6-3-Polymerase Chain Reaction (PCR) :

6-3-1-Identification des espèces *An. arabiensis* et *An. gambiae s.s.*

Le protocole utilisé est celui décrit par Scott et coll. [47]

6-3-1-1- Paramètres d'amplification de l'ADN :

Pour l'amplification de l'ADN, nous avons utilisé un volume réactionnel de 25 μ l dont 20 μ l de la mixture selon les concentrations des réactifs comme indiqué ci-dessous et 5 μ l d'ADN.

Tableau I : Concentration des réactifs nécessaires à l'identification des espèces *An. arabiensis* et *An. gambiae s.s.*

Conc.initiale	Réactifs	Volume	Conc.finale
10 X 15 Mm	Tampon de Taq (Buffer) Contenant de MgCL ₂	2,5 μ l	1 X 1,5 mM
5 Mm	DNTPs	4 μ l	0,8 Mm
5 μ M	Amorce UN	1 μ l	5 pmoles
5 μ M	Amorce AG	1 μ l	5 pmoles
5 μ M	Amorce AA	1 μ l	5 pmoles
5 U/ μ l	Taq polymerase	0,25 μ l	0,05 U
	H2O pure	10,25 μ l	
	ADN	5 μ l	

L'amplification de l'ADN a été faite dans une machine PTC-100 ou PTC-200 (programmable thermal controller) de manière cyclique en trois étapes : dénaturation, appariement et extension ou élongation.

Tableau II : Programme d'amplification :

Etape de la PCR	Température et temps	Cycles
Dénaturation initiale de l'ADN	94° C/ 2 min	
Dénaturation	94°C/ 30 sec	30
Appariement	55°C/ 30 sec	
Elongation	72°C/ 30 sec	
Extra élongation	72°C/ 10 min	
Conservation	4°C	

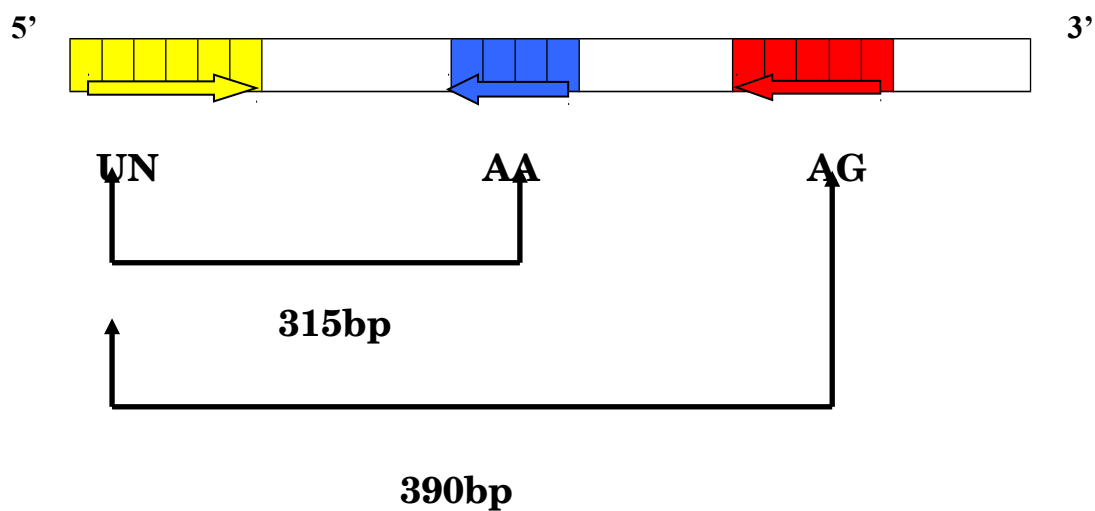


Figure 7 : Place des amorces sur le gène Intergenic Spacer (IGS) de l'ADN ribosomal (ADNr)

Légende :

- ➔ UN : amorce universelle pouvant amplifier la partie IGS du complexe
- ➔ AA : Amorce spécifique à *Anopheles arabiensis* (315bp)
- ➔ AG : Amorce spécifique à *Anopheles gambiae s.s* (390bp)

Tableau III : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées [47]

Amorces	Séquences des amorces
UN	5'-GTGTGCCGCTTCCTCGATGT-3'
AG	5'-CTGGTTTGGTCGGCACGTTT-3'
AA	5'-AAGTGCCTTCTCCATCCTA-3'

6-3-1-2-Préparation du gel et migration électrophorétique :

Pour avoir un gel à 2% d'agarose, nous avons dilué 2 g d'agarose (Invitron, Espagne) dans 100 ml de TBE 0,5X (Calbiochem, Darmstadt, Allemagne) que nous avons placé dans le four micro-ondes (type Sanyon) pendant 1 minute 30.

Nous avons ajouté 30 µl de bromure d'éthidium (Invitrogen) 10mg/ml afin d'obtenir une concentration finale de 0,3 µg/ml.

Puis nous avons coulé le gel dans le moule préalablement équilibré portant les peignes en prenant soin de bien dégager les bulles d'air.

Nous avons ensuite attendu que le gel se polymérise avant de le transférer dans le bac contenant le tampon TBE à 0,5X (Calbiochem, Darmstadt, Allemagne) comme électrolyte.

Afin d'observer les amplicons, nous avons mélangé 12 µl de l'ADN amplifié à une goutte de colorant, le Bleu de Bromothymol, avant de les loger dans les puits, en plus du marqueur que nous avons logé dans le premier puits.

La migration a été conduite sous un courant de 100 volts pendant 1 heure ; à l'aide d'un générateur (Biorad PowerPac 300, Hercules, CA, Etats-Unis).

Après la migration, les bandes ont été visualisées à l'aide d'une chambre noire à UV (Bio Rad Universal Hood II) et photographiées par une camera pour être visionnées sur l'ordinateur avec le logiciel Quantity one.

L'interprétation a consisté à identifier les espèces par comparaison de leur taille en base paire à celle du marqueur moléculaire (100 bp DNA Ladder, Invitrogen Ready load).

Ainsi on a : 390 pb pour *An. gambiae s.s.* et 315 pb pour *An. arabiensis*.

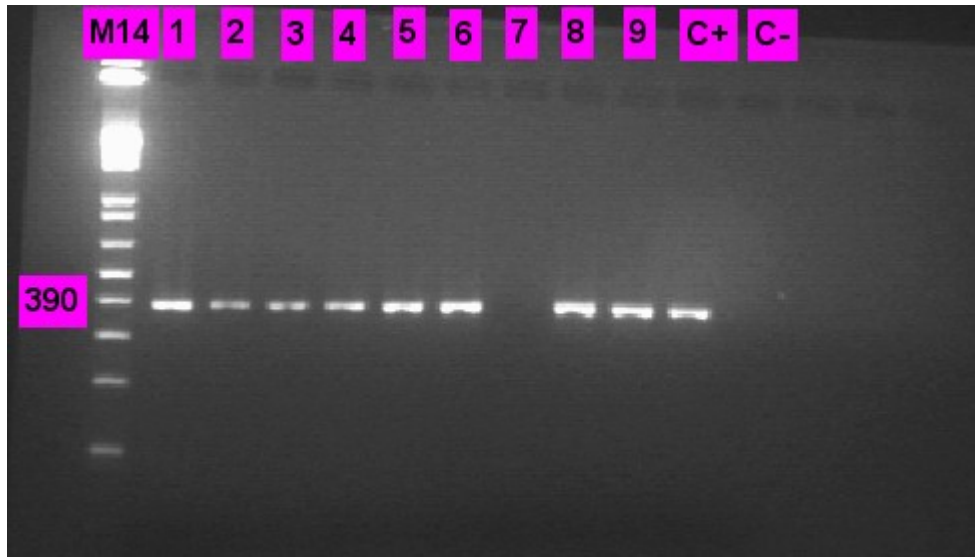


Figure 8 : Identification des espèces sur un gel d'agarose (2%)

Légende : M14 = marqueur XIV ;

1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 8 ; 9 sont des *An. gambiae s.s* ;

7= non identifié

C+ = Contrôle positif ; C- = Contrôle négatif.

6-3-2-Identification des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s*

Le protocole utilisé est celui de Favia et coll. [27].

6-3-2-1- Paramètre d'amplification de l'ADN :

Pour l'amplification de l'ADN, nous avons utilisé un volume réactionnel de 25 µl dont 22 µl de la mixture selon les concentrations des réactifs comme indiqué ci-dessous et 3 µl d'ADN.

Tableau IV : Concentration des réactifs nécessaires à l'identification des formes moléculaires de l'espèce *An. gambiae s.s.*

Conc.initiale	Réactifs	Volume	Conc.finale
10 X	Tampon de Taq (Buffer)	2,5 µl	1 X
15 mM	contenant de MgCL ₂		1,5 mM
25 mM	MgCL ₂	1 µl	1 mM
5 mM	DNTPs	4 µl	0,8 mM
7,5 µM	Amorce R3	1 µl	7,5 pmoles
7,5 µM	Amorce R5	1 µl	7,5 pmoles
15 µM	Amorce Mopti	1 µl	15 pmoles
15 µM	Amorce B/S	1 µl	15 pmoles
5 U/µl	Taq polymerase	0,12 µl	0,02 U
	H2O pure	10,38 µl	
	ADN	3 µl	

Tableau V : Programme d'amplification

Etape de la PCR	Température et temps	Cycles
Dénaturation initiale de l'ADN	94°C/ 10 min	
Dénaturation	94°C/ 30 sec	35
Appariement	63°C/ 30 sec	
Elongation	72°C/ 30 sec	
Extra élongation	72°C/ 7 min	
Conservation	4°C	

Tableau VI : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées [27]

Amorces	Séquences des amorces
R3	5'-GCAATCCGAGCTGATAGCGC-3'
R5	5'-CGAATTCTAGGGAGCTCCAG-3'

Mopti	5'-GCCCCTTCCTCGATGGGCAT-3'
B/S	5'-ACCAAGATGGTTCGTTGC-3'

6-3-2-2-Préparation du gel et migration électrophorétique :

La même technique a été appliquée au chapitre 6-3-1-2

L'interprétation a consisté à identifier les formes moléculaires comparaison de leur taille en base paire à celle du marqueur moléculaire (100 bp DNA Ladder, Invitrogen Ready load).

Ainsi on a : 727 pb pour M et 475 pb pour S.

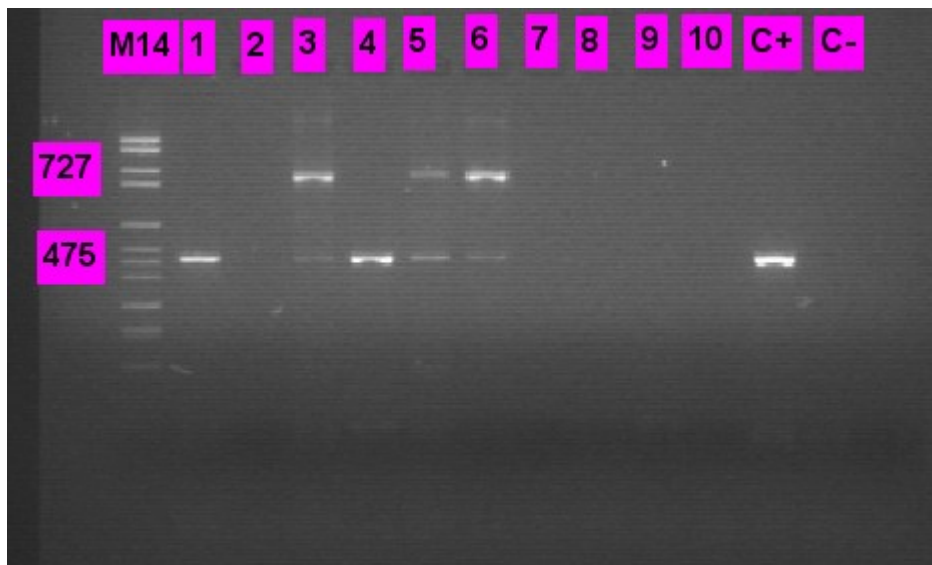


Figure 9 : Photos d'identification des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* sur un gel d'agarose à 2%.

Légende : M14 = marqueur XIV

1 ; 4 ; sont des formes moléculaire S ;

3 ; 5 ; 6 ; sont des hybrides M/S ;

2 ; 7 ; 8 ; 9 ; 10 ; non identifiés ;

C+= Contrôle positif ;

C- = Contrôle négatifs.

6-3-3-Characterisation moléculaire de la mutation *kdr*

Le protocole utilisé est celui par décrit par Martinez-Torres *et al* [40].

6-3-3-1-Paramètre d'amplification de l'ADN :

Pour l'amplification de l'ADN, nous avons utilisé un volume réactionnel de 25 μ l dont 22 μ l de la mixture selon les concentrations des réactifs comme indiqué ci-dessous et 3 μ l d'ADN.

Tableau VII : Concentration des réactifs nécessaires à la caractérisation du gène kdr.

Conc. initiale	Réactifs	Volume	Conc. finale
10 X	Tampon de Taq (Buffer)	2,5 µl	1 X
15 mM	Contenant de MgCl ₂		1,5 mM
25 mM	MgCl ₂	1 µl	1 mM
5 mM	DNTPs	4 µl	0,8 mM
50 µM	Amorce AgD1	1 µl	2 µM
50 µM	Amorce AgD2	1 µl	2 µM
50 µM	Amorce AgD3	1 µl	2 µM
50 µM	Amorce AgD4	1 µl	2 µM
5 U/µl	Taq polymérase	0,12 µl	0,02 U
	H ₂ O	10,38 µl	
	ADN	3 µl	

Tableau VIII : Programme d'amplification

Etape de la PCR	Température et temps	Cycles
Dénaturation initiale de l'ADN	94°C/ 2 min	
Dénaturation	94°C/ 20 sec	40
Appariement	48°C/ 15 sec	
Elongation	72°C/ 20 sec	
Extra élongation	72°C/ 10 min	
Conservation	4°C	

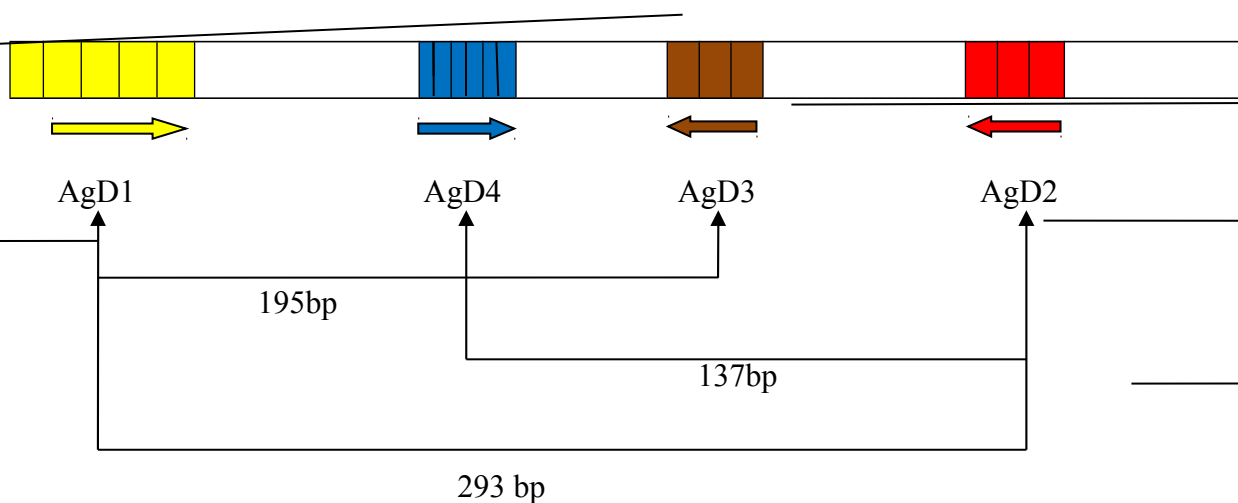






Figure 10 : Place des amorces sur le gène Intergenic Spacer (IGS) de l'ADN ribosomal (ADNr)

Légende :

-  AgD1: amorce d'*An. gambiae* diagnostic 1
 AgD2: amorce d'*An. gambiae* diagnostic 2
 AgD3: amorce d'*An. gambiae* diagnostic 3
 AgD4: amorce d'*An. gambiae* diagnostic 4

Le diagnostic par PCR du gène de résistance kdr se fait avec quatre amorces AgD1, AgD2, AgD3 et AgD4.

Les amorces AgD1 et AgD2 s'apparient pour donner la bande commune ou bande de contrôle se situant à 293 bp. AgD3 s'apparie seulement avec l'allèle de résistance du gène kdr, en association avec AgD1 pour amplifier un fragment de 195 bp.

L'amorce AgD4 s'associe uniquement avec l'allèle kdr sensible avec le concours d'AgD2 en amplifiant un fragment de 137 bp.

Tableau IX : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées [40].

Amorces	Séquences des amorces	Génotype
AgD1 AgD2	5'-ATAGATTCCCCGACCATG-3' 5'-AGACAAGGATGATGAACC-3'	Contrôle
AgD1 AgD3	5'-ATAGATTCCCCGACCATG-3' 5'-AATTTGCATTACTTACGACA-3'	Résistant
AgD2 AgD4	5'-AGACAAGGATGATGAACC-3' 5'-CTGTAGTGATAGGAAATTTA-3'	Sensible

6-3-3-2-Préparation du gel et migration électrophorétique :

La même technique a été appliquée au chapitre 6-3-1-2

Après la migration, les allèles sont déterminés par la taille de leurs bandes et en fonction de celle du marqueur (100 bp DNA Ladder, Invitrogen Ready-Load).

6-3-3-3-Interprétation :

Elle se fait en fonction de la présence du contrôle 293 bp et de l'un des deux allèles qui sont : résistant (kdr) avec 195 bp ou sensible (kds) 137 bp.

7-Analyse des données

Les tableaux et figures ont été réalisés avec le logiciel Microsoft Office Excel 2007.

7-1-Sensibilité d'*An. gambiae s.l* aux insecticides

Les recommandations de l’OMS quant à l’interprétation des résultats ont été adoptées : on parle de sensibilité des moustiques si le pourcentage de mortalité est compris entre 98-100 % ; résistance possible 80-97 % ; et résistance confirmée si ce taux est inférieur à 80 %.

7-2-Caractérisation moléculaire :

Dans chaque population de vecteurs, le test d’Hardy Weinberg (H-W) a été appliqué pour calculer les fréquences alléliques.

Principe de Hardy-weinberg

Soit un locus à 2 allèles (S et R) dans une population constituée du nombre de chaque génotype :

SS	RS	RR	Total
N_{SS}	N_{RS}	N_{RR}	N

$$F(S) = \frac{(2 \times N_{SS} + N_{RS})}{2N}$$
$$F(R) = \frac{(2 \times N_{RR} + N_{RS})}{2N}$$

N_{SS} = nombre d’individus SS ; N_{RS} = nombre d’individus RS ; N_{RR} = nombre d’individus RR ;
 N = nombre total ; $F(S)$ = fréquence de l’allèle S ; $F(R)$ = fréquence de l’allèle R.

8-Considérations éthiques

Le protocole de l’étude a été présenté au comité d’éthique de l’INRSP du ministère de la santé du Mali et a reçu son approbation. Le consentement des leaders et des autorités a été recherché. Après cette approbation, une équipe d’investigateurs a rencontré le Médecin Chef du Centre de Santé de Référence de la Commune IV, les Chefs de quartier de Djicoroni Para et de Taliko afin d’échanger sur l’étude (objectifs, méthodologie, résultats attendus, stratégie de sensibilisation de la population). Une enquête CAP a été menée en mi février 2009 dans les quartiers choisis afin d’avoir le consentement individuel des familles propriétaires des concessions incluses dans l’étude. Ceci consistait à une explication détaillée du protocole aux chefs de famille tout en spécifiant les risques et les bénéfices liés à l’étude ; afin qu’ils puissent donner leur consentement et respecter les consignes recommandés par l’OMS en matière de PID. Cependant mention spéciale a été faite aux familles qu’elles pouvaient se retirer de l’étude à tout moment sans aucun préjudice.

V-RESULTATS:

1-Enquêtes préliminaires.

Elle s'est déroulée en février 2009.

Avant la Pulvérisation Intra Domiciliaire, nous avons recensé le nombre de concession et le nombre de famille dans les 2 quartiers puis nous avons sélectionné 22 concessions à Djicoroni Para et 27 concessions à Taliko pour la PID, 6 concessions par site comme concessions témoins. Nous avons ensuite procédé à une enquête CAP pour appréhender les moyens de lutte anti vectorielle utilisés dans les concessions ainsi qu'une enquête entomologique pour estimer les densités des populations anophélienne dans les 2 quartiers.

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les deux quartiers en nombres de concessions (Chi carré =0,00 ; P =0,99), les deux quartiers sont étaient comparables.

Tableau X: Moyens de protection contre les moustiques à Djicoroni Para et à Taliko

Moyens de Protection contre les moustiques	Djicoroni Para		Taliko	
	Concessions à pulvérisées(%)	Concessions à ns Témoins(%)	Concessions à Pulvérisées(%)	Concessions à ns Témoins(%)
Moustiquaires, produits anti-moustiques et autres	1(4,5)	1(16,7)	1(3,7)	0
Moustiquaires	5(22,7)	0	12(44,4)	0
Moustiquaires et produits anti-moustiques	14(63,7)	4(66,6)	13(48,2)	6(100)
Produits anti-moustiques	2(9,1)	1(16,7)	1(3,7)	0
Total	22(100)	6(100)	27(100)	6(100)

Nous notons qu'il y avait une forte utilisation des moustiquaires et des produits anti-moustiques (Serpentins, Sprays) sur les 2 sites. Les 2 sites étaient comparables car les fréquences d'utilisations des moustiquaires et produits anti moustiques étaient les mêmes ($P > 0,05$).

Tableau XI : Les cas de paludisme présumés ou présomptifs sans diagnostique biologique sur les 2 sites.

Sites	Cas de paludisme	
	Cas présumés	Cas présomptifs
Djicoroni Para	8	2
Taliko	12	4
Total	20	6

Cas présumés : présence d'ordonnance prescrite par le médecin avec des antipaludéens

Cas présomptifs : sans ordonnance prescrite par le médecin, traitement antipaludéen traditionnel fait par les répondants.

Tableau XII : Type et nombre de gîtes larvaires identifiés à Djicoroni Para et à Taliko

Type de gîte	Djicoroni Para	Taliko
Permanant	1	1
Semi permanant	2	1
Temporaire	2	0
Total	5	2

Il y avait plus de gîtes larvaires à Djicoroni Para qu'à Taliko

Tableau XIII: Nombre et densité moyenne des larves d'*An. gambiae s.l* collectées à Djicoroni Para et à Taliko.

	Djicoroni	
	Para	Taliko
Nombre de larves	3	0
Nombre de gîtes	5	2
Densité moyenne/gîtes	0,6	0

2-Enquête entomologique après la PID.

Elle s'est déroulée de mars à août 2009.

Après la Pulvérisation Intra Domiciliaire, nous avons estimé la densité de la population anophélienne dans les 2 quartiers. Pour cela nous avons procédé à des captures de moustiques dans les concessions.

Tableau XIV : Nombre et densité moyenne d'*An. gambiae s.l* sur les deux sites en 3 nuits de capture (piège CDC).

<i>An gambiae s.l</i>	Capture avec les pièges CDC en 3 nuits/mois			
	Djicoroni para		Taliko	
	Témoin	Pulvérisée	Témoin	Pulvérisée
Une semaine après la PID (mars 2009)				
Nombre de femelles capturées	3	0	4	0
Nombre de chambres	9	9	9	9

Densité Moyenne/Chambre	0,33	0	0,44	0
Douze semaines après la PID (mai 2009)				
Nombre de femelles capturées	6	7	6	4
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	0,66	0,77	0,66	0,44
Seize semaines après la PID (juin 2009)				
Nombre de femelles capturées	16	4	19	0
Nombre de chambres	8	8	9	9
Densité Moyenne/Chambre	2	0,5	2,11	0
Vingt semaines après la PID (juillet 2009)				
Nombre de femelles capturées	10	3	18	3
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	1,11	0,33	2	0,33
Vingt quatre semaines après la PID (août 2009)				
Nombre de femelles capturées	16	6	11	5
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	1,77	0,66	1,22	0,55

Une semaine après la PID, en utilisant les pièges CDC nous n'avons pas capturé de moustiques dans les chambres des concessions pulvérisées tandis que la densité moyenne de femelles d'*An. gambiae s.l* était respectivement 0,33 et 0,44 dans les chambres des concessions témoins. Douze semaines après la PID, la densité moyenne dans les concessions pulvérisées étaient de 0,77 à Djicoroni Para et 0,44 à Taliko tandis que la même densité était de 0,66 dans les 2 sites.

Dans les 2 sites, 16, 20 et 24 semaines après la PID, la densité moyenne dans les concessions pulvérisées variait entre 0 et 0,66 ; par contre dans les concessions témoins la même densité variait entre 2,11 et 1,11.

Tableau XV : Nombre et densité moyenne d'*An. gambiae s.l* sur les deux sites en 3 jours de capture (spray catch).

Capture par spray catch 3 jours/mois				
<i>An gambiae s.l</i>	Djicoroni para		Taliko	
	Témoin	Pulvérisée	Témoin	Pulvérisée
Une semaine après la PID (mars 2009)				
Nombre de femelles capturées	4	0	3	0

Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	0,44	0	0,33	0
Douze semaines après la PID (mai 2009)				
Nombre de femelles capturées	2	0	10	3
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	0,22	0	1,11	0,33
Seize semaines après la PID (juin 2009)				
Nombre de femelles capturées	16	0	14	0
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	1,77	0	1,55	0
Vingt semaines après la PID (juillet 2009)				
Nombre de femelles capturées	18	0	15	2
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	2	0	1,66	0,22
Vingt quatre semaines après la PID (août 2009)				
Nombre de femelles capturées	17	5	13	2
Nombre de chambres	9	9	9	9
Densité Moyenne/Chambre	1,88	0,55	1,44	0,22

En mars 2009, nous n'avons pas capturé de femelles d'*An. gambiae s.l* dans les chambres des concessions pulvérisées alors que la densité moyenne dans les concessions témoins était respectivement 0,44 et 0,33 à Djicoroni Para et à Taliko. Douze semaines après la PID, aucune femelle d'*An. gambiae s.l* n'a été capturée à Djicoroni Para dans les concessions pulvérisées alors que la densité moyenne était 0,22 dans les témoins. Par contre à Taliko où la K-Othrine a été utilisée la densité moyenne par chambre était 0,33 dans les chambres traitées, cette densité était 1,11 dans les chambres témoins.

A Djicoroni Para, la densité moyenne dans les concessions pulvérisées 16, 20 et 24 semaines après la PID variait entre 0 et 0,55 ; tandis que pendant ces mêmes périodes la densité dans les concessions témoins variait entre 1,77 et 2. A Taliko pendant ces mêmes périodes la densité moyenne variaient entre 0 et 0,22 dans les concessions pulvérisées alors celle des concessions témoins variait entre 1,44 et 0,22 dans les concessions pulvérisées.

3-Etude de la toxicovigilance post PID.

Elle s'est déroulée de mars à mai 2009.

Tableau XVI : Les principaux changements constatés par la population après la PID

Interrogation dans les concessions	Fréquence (%)
Pas de réduction de moustiques	3(6,3)
Réductions des moustiques	35(72,9)
Réductions autres insectes	6(12,5)
Réductions moustiques et autres insectes	4(8,3)
Total	48(100)

72,9% des personnes interrogées sur les 2 sites ont trouvé qu'après la PID il y a eu une réduction des moustiques dans les concessions.

Tableau XVII : Le taux de satisfaction des personnes interrogées après la PID

Satisfait	Sites	
	Djicoroni Para (%)	Taliko (%)
Oui	21(95)	22(84)
Non	1(5)	4(16)
Total	22(100)	26(100)

Les personnes interrogées à Djicoroni Para et à Taliko après la PID étaient satisfaites avec respectivement 95% et 84%.

Tableau XVIII : Ennuis rencontrés par les habitants des concessions pulvérisées sur les 2 sites

Ennuis	Fréquence (%)
Pas d'ennui de santé	43(89,5)
Maux de tête	1(2,1)
Odeur du produit	1(2,1)
Malaise respiratoire	1(2,1)
Toux	2(4,2)
Total	48(100)

Les 89,5% des personnes interrogées ont dit qu'ils n'ont pas eu d'ennui de santé après la pulvérisation. Un cas de malaise respiratoire chez un asthmatique a été décelé dans une concession pulvérisée à Djicoroni Para. Ce cas a été pris en charge par l'équipe médicale.

Tableau XIX : Les cas de paludisme présumé ou présomptif sans diagnostic biologique sur les 2 sites dans les concessions pulvérisées 3 mois après la PID

Sites	Cas de paludisme	
	Cas présumés	Cas présomptifs
Djicoroni Para	8	0
Taliko	4	0
Total	12	0

Cas présumés : présence d'ordonnance prescrite par le médecin avec des antipaludéens

Cas présomptifs : sans ordonnance prescrite par le médecin, traitement antipaludéen traditionnel fait par les répondants.

4-Test de sensibilité et de rémanence des 2 insecticides

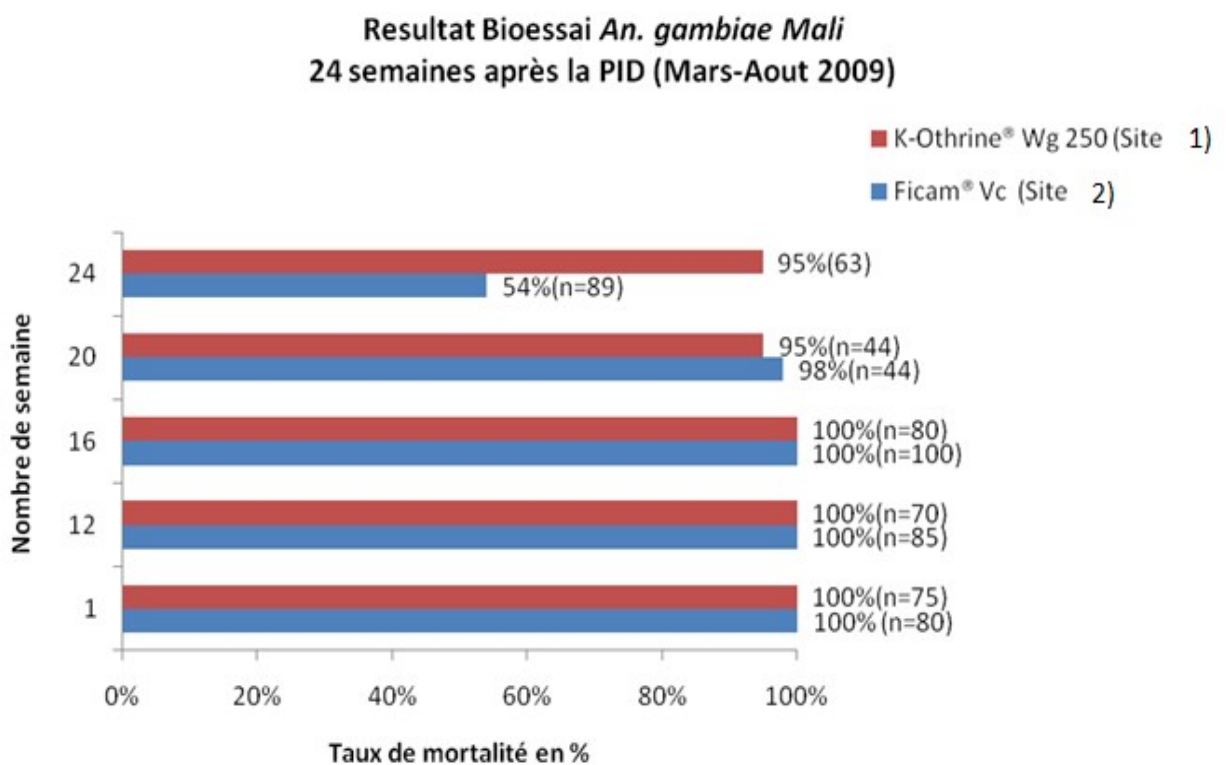


Figure 11 : Taux de mortalité d'une population d'*An. gambiae s.l.* originaire du Mali d'une semaine à 24 semaines après la PID (*site 1 Taliko*: K-Othrine® WG 250 ; *site 2 Djicoroni Para*: Ficam® VC), **n**=Nombre de moustiques par essai

Au total 730 moustiques d'*An. gambiae s.l.* originaire du Mali ont été exposé aux deux insecticides (K-Othrine et Ficam) sur les murs des 2 sites (Djicoroni Para et Taliko). Après la PID, un taux de mortalité de 100% a été observé 1, 12 et 16 semaines (4 mois) avec les deux

insecticides. La K-Othrine avait une rémanence de 24 semaines (6 mois) avec un taux de mortalité de 95% (n=63), par contre le Ficam avait une rémanence de 20 semaines (5 mois) avec un taux de mortalité de 98% (n=44). Le Ficam avait une faible rémanence le sixième mois 54% (n=89) de mortalité. Les deux insecticides étaient efficaces avec une rémanence de 5 à 6 mois après la PID. Le taux de mortalité dans les concessions témoins sur les 2 sites était inférieur à 5%.

5- Caractérisation moléculaire

Nous avons fait la caractérisation moléculaire des 70 moustiques capturés dans les 2 quartiers pendant la saison sèche chaude (mars) et la saison des pluies (août/septembre).

Tableau XX : Espèces, formes moléculaires et fréquence allélique des génotypes *Kdr d'An. gambiae s.s.* à Taliko et a Djicoroni Para en mars, août et septembre 2009

Site & Mois	Espèces		Formes Moléculaires			Mutation <i>Kdr</i>			F(R)
	Aa	Ag	M	M/S	S	SS	RS	RR	
Taliko et Djicoroni Para mars 2009	3 (14%)	19 (86%)	11 (58%)	7 (37%)	1 (5%)	14	3	---	0,09
Taliko et Djicoroni Para août 2009	---	29 (100%)	7 (32%)	1 (5%)	14 (63%)	8	7	4	0,39
Taliko et Djicoroni Para septembre 2009	---	12 (100)	---	---	11 (100%)	8	5	---	0,19

Aa = *An. arabiensis*; Ag = *An. gambiae*; M = Forme moléculaire M ; S = Forme moléculaire S; SS = Sensible homozygote; RS=Résistant hétérozygote; RR = Résistant homozygote; F(R) = Fréquence allélique ; --- = 0

La fréquence de l'allèle résistant F(R) est de 9% au mois de mars, cette même fréquence est de 39% au mois d'août (6 mois après la PID), par contre au mois de septembre on a trouvé une fréquence de 19%.

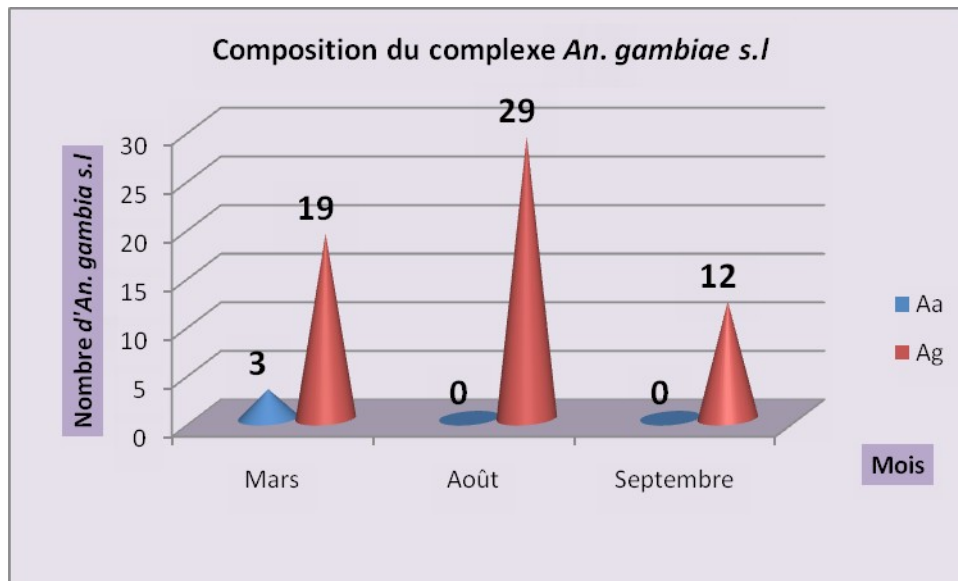


Figure 12 : Composition du complexe *Anopheles gambiae s.l.* des 3 mois

Au mois de mars sur un total de 22 *An. gambiae s.l.*, nous avons obtenu 86,4% (N=19) d'*An. gambiae s.s.* et 13,6% (N=3) d'*An. arabiensis*, par contre au mois d'août et au mois de septembre avec respectivement 29 et 12 *An. gambiae s.l.*, nous avons obtenu 100% d'*An. gambiae s.s.*

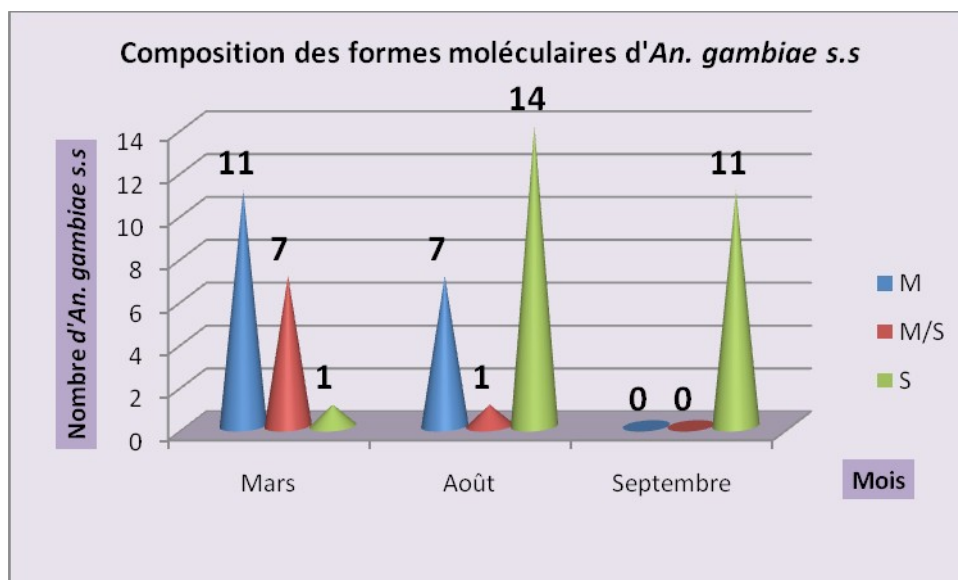


Figure 13 : Composition des formes moléculaires d'*Anopheles gambiae s.s.*

On constate qu'au mois de mars sur un total de 19 *An. gambiae s.s.* la forme M est dominante avec 57,9% et 36,8% sont des hybride M/S, la forme S représente 5,3%. Au mois d'août sur 22 *An. gambiae s.s.*, nous avons obtenu 63,6% de forme S, 31,8% de forme M et 4,6% de M/S.

Au mois de septembre nous avons trouvé exclusivement la forme S.

Tableau XXI : Fréquence allélique F(R) chez les formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* sur les 2 sites

Localités	Mois	Kdr	Formes moléculaires		
			M	S	M/S
Djicoroni Para	mars	SS	1	---	4
		RS	---	---	---
		RR	---	---	---
		F(R)	---	---	---
	août	SS	1	4	---
		RS	2	2	1
		RR	3	---	---
		F(R)	0,67	0,17	0,5
	septembre	SS	---	4	---
		RS	---	4	---
		RR	---	---	---
		F(R)	---	0,25	---
Taliko	mars	SS	7	---	2
		RS	2	1	---
		RR	---	---	---
		F(R)	0,11	0,5	---
	août	SS	---	2	---
		RS	1	1	---
		RR	---	1	---
		F(R)	0,5	0,38	---
	septembre	SS	---	2	---
		RS	---	1	---
		RR	---	---	---
		F(R)	---	0,17	---

Le principe de Hardy-weinberg a été utilisé pour calculer la fréquence allélique F(R).

M = Forme moléculaire M ; S = Forme moléculaire S ; M/S = hybride M/S ; SS = Sensible homozygote ; RS = Résistant hétérozygote ; RR = Résistant homozygote ; F(R) = Fréquence allélique ; --- = 0

A Djicoroni Para la fréquence allélique F(R) est nulle chez toutes les formes moléculaires du mois de mars ; en août la fréquence est de 0,67chez la forme M ; 0,17 chez la forme S et 0,5 chez l'hybride M/S. En septembre nous avons trouvé 0,25 chez la forme S et zéro chez la forme M.

A Taliko en mars nous avons trouvé de l'allèle R chez les deux formes avec 0,11 pour M et 0,5 pour S.

En août la fréquence de l'allèle est de 0,5 pour la forme M et de 0,38 pour S. En septembre la fréquence est de 0,17 pour S et zéro pour M.

VI-COMMENTAIRES ET DISCUSSION

L'évaluation de l'efficacité et de la rémanence de la K-Othrine[®] W250 et du Ficam[®] VC en Pulvérisation Intra Domiciliaire sur les 2 sites (Djicoroni Para et Taliko) a été faite en utilisant des concessions pulvérisées (Tests) et des concessions non pulvérisées (Témoins) selon le protocole décrit par l'OMS [60].

Les concessions sélectionnées pour la PID sur les 2 sites étaient au moins habités par une famille. Les principaux moyens de lutte contre les moustiques utilisés par la population étaient les moustiquaires et les produits anti moustiques.

Les 2 sites étaient comparables, les fréquences d'utilisations des moustiquaires et produits anti moustiques étaient les mêmes $p > 0,05$.

Cela démontre une forte implication de la population dans la lutte contre les moustiques en général et particulièrement contre les moustiques vecteurs du paludisme. Malgré une forte implication de la population dans l'utilisation des moustiquaires et produits anti moustiques quelque cas de paludisme présumés ont été décelés sur la base de l'ordonnance prescrite par le médecin et présomptifs (traitement antipaludéen traditionnel).

Dans les concessions pulvérisées, la population était satisfaite de la PID avec la K-Othrine[®] WG 250 à Taliko et le Ficam[®] VC à Djicoroni Para.

Elle a aussi noté après la PID une grande réduction de la population des insectes nuisibles (cafard, puce, mouche domestiques, etc...) en général et les moustiques en particulier. Un cas de malaise respiratoire chez un asthmatique a été décelé dans une concession pulvérisée à Djicoroni Para, la personne a bénéficiée de la prise en charge de l'équipe médicale de l'étude. Une diminution du nombre de cas de paludisme présumé et présomptif a été observée 3 mois après la PID, cette diminution est probablement due à l'effet de la PID.

L'étude entomologique avant la PID a permis de sélectionner 2 sites possédant chacun des gîtes permanent d'anophèle durant la période de cette étude. Elle a aussi apporté pour chaque site des informations sur les espèces culicidiennes présentes, la densité des populations de moustiques et les types de gîtes larvaires des moustiques.

Des gîtes larvaires permanents, semi permanents et temporaires ont été localisés sur la rive gauche du fleuve Niger à Djicoroni para et au bord d'un cours d'eau à Taliko. La faible densité larvaire d'*Anopheles gambiae s.l* sur les sites est probablement due au fait que la prospection larvaire et la capture ont été faites en pleine saison sèche (février), une période

caractérisée par un nombre limité de gîte, des conditions climatiques défavorables au développement des moustiques, période durant la quelle l'harmattan (vent chaud et sec est orienté Nord-Est/Sud-Ouest) est prédominant à Bamako.

La capture des moustiques adultes une semaine après la PID a montré une absence totale d'*An. gambiae s.l* dans les concessions pulvérisées. Douze semaines après la PID une faible densité moyenne d'*An. gambiae s.l* a été trouvée uniquement dans les concessions pulvérisées avec la K-Othrine® à Taliko. A cette même période des anophèles ont été capturés dans les concessions témoins sur les 2 sites. Seize, vingt et vingt quatre semaines après la PID, la densité de moustiques dans les concessions pulvérisées était faible de 0 à 0,66 sur les 2 sites alors que la densité dans les concessions témoins était de 1,44 à 2,11.

La population d'*An. gambiae s.l* originaire du Mali était sensible aux deux insecticides avec 100% de mortalité une semaine, douze semaines et seize semaines après la PID.

La K-Othrine a une rémanence de 24 semaines avec un taux de mortalité de 95% le 5^{eme} et 6^{eme} mois. Le Ficam a une bonne rémanence le 5^{eme} mois avec un taux de mortalité de 98% et une faible rémanence le sixième mois 54% de mortalité.

Les deux insecticides utilisés sont très efficaces et possèdent une bonne rémanence de 24 semaines (K-Othrine) et de 20 semaines (Ficam) sur les surfaces non poreuses (ciment, peinture) et poreuses (banco) dans les concessions à Bamako.

Des résultats similaires ont été trouvés au Mali par Dolo et Coll. [20], au Mozambique par Simbarashe et coll. [48] et au Zimbabwe par Rajendra et coll. [45].

L'identification des espèces par la PCR a montré qu'*Anopheles gambiae s.s* est le vecteur dominant dans le district de Bamako.

En saison sèche (au mois de mars) nous avons trouvé quelques *An. arabiensis* avec 14% (3/22), par contre pendant les mois pluvieux (août et septembre) nous avons obtenu 100% d'*An. gambiae s.s*. Pendant donc cette période la transmission serait assurée par cette espèce.

Cette absence d'*An. arabiensis* pendant les mois pluvieux serait due à une forte humidité dans le district de Bamako qui empêcherait le développement et la multiplication de l'*An arabiensis*. Cette observation a été faite avec plusieurs études notamment celle de Della Torre et coll. [13] et celle d'Adamou A [1] qui a trouvé la fréquence élevée d'*An. arabiensis* en saison sèche.

L'identification des formes moléculaires nous a montré qu'elles varient en fonction des saisons. En mars, période chaude et sèche, la forme M est prédominante par rapport à la forme S. Cela indique une adaptation de la forme M à un climat plus sec. Cette observation est

renforcée par le faible taux de la forme M au mois d'août et son absence au mois de septembre ; donc durant la saison hivernale. Nos données rejoignent celles de Touré et coll. [53] et de Wondji et coll. [63] qui démontrent que la forme S est majoritaire en saison des pluies alors que la forme M s'adapte mieux à la saison sèche. Ainsi, l'humidité apparaît comme un facteur écologique dans la sélection de la faune anophélienne. Ces données reflètent celles de Carnahan J et coll. [5].

En août nous avons trouvé un seul individu hybride M/S, tandis qu'en mars il y a une part importante d'individu hybride avec 36% de forme M/S, cette hybridation s'explique par la coexistence des deux formes moléculaires sur une même aire géographique, elles vivent en sympatrie. La sympatrie entraîne un mécanisme de coévolution qui tend à accroître les différenciations morphologiques de chacune des deux espèces.

La fréquence allélique de la mutation *Kdr* était de 9% (N=17) en mois de mars (une semaine après la PID), cette même fréquence était de 39% (N=19) en mois d'août (6 mois après la PID) par contre en mois de septembre la fréquence a été de 19% (N=13).

Les premières découvertes de la mutation *Kdr* ont été faites seulement dans la forme moléculaire S [8 ; 63 ; 25]. Dans notre étude l'allèle de résistance R a été retrouvé chez toutes les formes moléculaires y compris l'hybride M/S. Au Mali, Adamou A [1] avait aussi trouvé la mutation *Kdr* chez la forme M. Au Bénin, Cissé M [8] avait trouvé une fréquence allélique de la mutation *Kdr* de 72-80% chez la forme M, mais cette fréquence allélique de la mutation *Kdr* dans la forme M était analogue à celle obtenue précédemment dans la même zone [10] et supérieure à celle retrouvée dans les populations du Burkina Faso [13], du Cameroun [23 ; 9] et du Togo [38]. La mutation a peut être été introduite par introgression du taxon S dans le M [59].

VII-CONCLUSION

Il ressort de cette étude que l'utilisation des moustiquaires est le principal moyen de protection contre les moustiques au niveau des 2 sites.

La population était largement satisfaite de la PID avec la K-Othrine[®] WG 250 et le Ficam[®] VC. Aucun ennui de santé n'a été rencontré suite à l'utilisation des 2 insecticides. Après la PID, une diminution du nombre de cas de paludisme (présumés et présomptifs) et de la densité des populations d'*An. gambiae s.l* a été observée 3 mois après. Les deux insecticides testés sont efficaces contre le vecteur majeur du paludisme dans le district de Bamako. La K-Othrine[®] WG 250 possède une rémanence de 24 semaines (6 mois) par contre le Ficam[®] VC a une rémanence de 20 semaines (5 mois).

Notre étude a confirmé qu'*An. gambiae s.s* est le vecteur majeur du paludisme dans le district de Bamako et que les formes moléculaires M et S vivent en sympatrie à des fréquences variables en fonction des saisons. La saison pluvieuse créerait des conditions favorables au développement et à la multiplication des membres du complexe *Anopheles gambiae s.s* et de la forme S au détriment de l'*An. arabiensis* et de la forme M qui sont plus inféodés à un environnement plus sec. Ainsi, il apparaît que la transmission du paludisme se fait par relais, la transmission étant assurée par *An. arabiensis* en saison sèche et par *An. gambiae s.s* en saison des pluies.

L'allèle de résistance R a été identifié chez toutes les formes moléculaires d'*An. gambiae s.s*. Les différentes informations importantes générées par cette étude pourront être très utiles au PNLP pour la planification des activités de lutte contre le paludisme et le choix des insecticides, par exemple l'utilisation des carbamates (Bendiocarbe) dans les zones de résistance aux pyréthrinoïdes (Deltaméthrine).

VIII-RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude les recommandations suivantes ont été formulées :

❖ **Au PNLP :**

Mettre la K-Othrine[®] WG 250 et le Ficam[®] sur la liste des gammes d'insecticide utilisé pour la pulvérisation intra domiciliaire.

Utiliser les carbamates dans les zones de résistance aux pyréthriinoïdes et vis-versa.

❖ **Aux chercheurs :**

Tester la sensibilité des vecteurs à de nouvelles molécules ou à des associations de molécules.

Effectuer des tests périodiques de sensibilité pour la détection précoce de la résistance.

❖ **Aux autorités compétentes :**

Réglementer l'utilisation des insecticides en agriculture.

Facilité l'homologation de la K-Othrine et du Ficam.

Mener une étude dans la zone avec un grand nombre de moustiques pour confirmer ou infirmer ce que nous avons trouvé.

❖ **Aux populations :**

Utiliser uniquement des insecticides indiqués par des services habilités à cet effet, afin d'éviter une utilisation anarchique, principal facteur favorisant l'apparition de la résistance.

IX-BIBLIOGRAPHIE

1-Adamou A.

Contribution des espèces vectrices à la transmission du paludisme et le diagnostic du gène de résistance kdr chez les formes chromosomiques d'*An. gambiae s.s* à Donéguébougou (arrondissement de Kati). Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, 2003, Bamako, Mali.

2-Akogbeto M., Noukpo N., Ahourya G.

Analyse de la résistance des *Anopheles gambiae* aux pyréthriinoïdes et leurs formes moléculaires et chromosomiques par des méthodes de titrage biologique de l'OMS et du CDC et par des techniques PCR au Bénin, 2001. Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR.

3-Akogbeto M., Yacoubou S.

Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthriinoïdes utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. Manuscrit n°1913. "Entomologie médicale". Reçu le 12 novembre 1997. Accepté le 23 mars 1999.

4-Baber Ibrahima., Magassa Basséré., Traoré Sitan., Bagayoko Magaran., Touré Mahamoudou., Diarra Dansiné., Cissé Moussa.

Profil entomologique du paludisme au Mali. Rapport d'activité. Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique, 2010.

5-Carnahan J., Zheng L., Taylor C.E., Touré Y.T., Norris D.E., Dolo G., Diuk-Wasser M., Lanzaro G.C.

Genetic Differentiation of *Anopheles gambiae s.s.* Populations in Mali, West Africa, Using Microsatellite Loci, 2002.

6-Carnavale P., Robert V., Boudin C., Halma JM., Pazart LH., et al.

La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyréthriinoïdes au Burkina Fasso. Bull Soc Pathol Exot, 1988, 81, 832-842.

7-Cissé M.

Caractérisation de la résistance aux insecticides des populations anophéliennes de Cotonou au Bénin en Afrique de l'Ouest, 2008. Master International d'Entomologie Médicale et vétérinaire (MIE).

8-Chandre F., Darriet F., Manga L., Akogbeto M., Faye O., Mouchet J., Guillet P.

Situation de la résistance aux pyréthriinoïdes chez *An. gambiae s.l.* Bulletin de l'OMS, 1999. Recueil d'articles no 1, 77 (3): 230-234.

9-Chouaïbou1 M., Etang J., Brévault T., Nwane P., Hinzoumbé 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, 2008. Tropical Medicine and International Health. doi:10.1111/j.1365-3156.2008.02025.x.

10-Corbel V., N'Guessan R., Brengues C., Chandre F., Djogbénou L., Martin T., Akogbéto M., Hougard J.M., Rowland M.

Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, 2007. West Africa. Acta Tropica. 101: 207–216, 2007.

11-Coulibaly M.B., Bah B., Dolo G., Bagayoko M., Sogoba N., Traoré S.F., Sangaré D., Bouaré M., Dao A., Niaré O., Sakai R., Touré Y.T.,

Sensibilité/résistance aux insecticides des *Anopheles gambiae s.l.* au Mali, 1998. Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR, 2001

12-Coulibaly A., Maïga H. M., Sankaré O., Sow M., Di Deco M. A. & Coluzzi M., Touré Y. T., Petrarca V., Traoré S.F.,

The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, 1998. West Africa. Parasitologia 40: 477-511.

13-Della Torre, Costantini C., Besansky N.J., Caccone A., Petrarca V., Powell J.R.

Speciation within *Anopheles gambiae*, 2002, the glass is half full. Science 298, 115-117

14-Diabaté A., Baldet T., Chandre F., Guiguemde TR., Guillet P.

First report of the *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* M form from Burkina Faso, 2002. West Africa. Parasitologia. 44: 157-158, 2002.

15-Diabaté A., Baldet T., Ido K., Dabiré R., Guiguemde T.R.;

Sensibilité aux pyréthrinoïdes d'*An. gambiae s.l.* dans les hydro-aménagements au Burkina Faso : Implications opérationnelles dans la lutte contre le paludisme, 2001. Laboratoire de Parasitologie / Entomologie, Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR.

16-Diabaté A., Baldet T., Chandre F., Akogbeto M., Guillet P., Guiguemde T.R., Hougard J.M.

Impact des variations spacio-temporales chez *An.gambiae* et les formes moléculaires sur l'état de la résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT au Burkina Fasso. Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR, Hararé 2001.

17-Diagne N., Fontenille D., Konate L., Faye O., Lamazana MT., et al.,

Les anophèles du Sénégal. Liste commentée et illustrée. Bull Soc Pathol Exot, 87, 267-277, 1994.

18-Diallo B.

Evaluation de l'efficacité de trois insecticides de synthèse sur les vecteurs du paludisme et leur rémanence sur les supports imprégnés. Thèse de Doctorat en pharmacie, 2006, Bamako, Mali.

19-Diani F.

Evaluation de la situation sanitaire au Mali. Thèse de Doctorat en pharmacie, 1985, Bamako.

20-Dolo Guimogo, Diallo Bréhima, Sissoko Bakary et Kassogué Yaya.

Test d'efficacité de la K-Othrine et du Ficam (deux produits insecticides) sur les moustiques vecteurs de paludisme. Rapport d'activité. Laboratoire National de santé du Mali, 2007.

21-Elissa et coll.,

Résistance of *Anopheles gambiae s.s* to pyrethroids in Côte d'Ivoire, 1993. Annales de la société belge de Médecine tropicale, 1993, 73(4) : 291-294.

22-Elliot R.,

The pyrethroids: Early discovery, recent advances and future. Pestic Sci. 27: 337-357, 1989.

23-Etang J., Fondjo E., Chandre F., Brengues C., Nwane P., Chouaibou M., Ndjemai H., Simard F.

First Report of Knockdown Mutations in the Malaria Vector *Anopheles gambiae* from Cameroon, 2006. Am. J. Trop. Med. Hyg. 74: 795-797.

24-Etang J., Manga L., Chandre F., Toto J.C., Guillet P., Fondjo E., Fontenille D.

Evaluation de la sensibilité des *An. gambiae* au DDT et aux pyrèthroïdes au Cameroun 2001. Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR.

25-Fanello et coll.,

Distribution du gène kdr dans les formes chromosomiques et moléculaires des *Anopheles gambiae s.s* en Afrique Occidentale. Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR, 2001.

26-Favia G., Dimopoulos G., Della Torre A., Touré Y. T., Coluzzi M., & Christos L.

Polymorphisms detected by random PCR distinguish between different chromosomal forms of *Anopheles gambiae*, 1994. Insect Mol Biol 3: 115-157.

27-Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Siden-Kiamos I., Louis C.

Insect Mol Biol 10: 19-23, 2001.

28-Gentilini M.

Nuisances: Ectoparasites, myases, sangsues. Médecine Tropicale 5th edn, 1993. Flammarion-Médecine-Sciences, pp. 705-717, 1993.

29-Gillies M. T., De Meillon B.

Pub. Sth. Afr. Ins. Med. Res. 54, Pp: 343. Of Africa South of Sahara. The Anophelinae 1968.

30-Guillet P.

La résistance des vecteurs aux insecticides, mai 1995. Rapport ORSTOM / Centre Montpellier.

31-Guillet P., Chandre F., Akogbeto M., Darret F., Faye O.

Resistance of *Anopheles gambiae* s.l. to pyrethrinoids in Africa and the use of impregnated materials. Meeting on insecticide impregnated Materials, Brazaville, Congo 18 20 March 1996.

32-Guillet P.

Les principales familles d'insecticides et leurs modes d'action. Atelier de lutte antivectorielle. Montpellier, OMS, 31/08-2/09/1999.

33-Hamon J., PAL R.,

Practical implications of insecticide resistance in arthropods of medical and veterinary importance, 1968. Not published by WHO/VBC/68.106 (Davidson and Zahar).

34-Hamon J., Eyraud M., Diallo B., Dyenkouma A., Choumara H.B. et Sylla O.

Les moustiques de la république du Mali, 1961. (Dipt. Culidae).

35-Hamon J. et Sales. S.

Etude de la relation existant chez les moustiques adultes, entre la durée d'exposition à un insecticide et la mortalité résultante. Bull.org.Mond.Santé, 1970, 43,757-762.

36-Holsteine M.

Guide pratique de l'anophelisme en Afrique de l'Ouest Française (A.O.F), 1949.

37-Kaplan J.C., Delpech M.

Biologie Moléculaire et Médecine (2e éd.). *Flammarion*, 1993.755 p.

38-Ketoh., Koffivi Guillaume., Mensan K., Ahadji-Dabla., Cecile Brengues., Vincent Corbel., Fabrice Chandre., Jean Marc Hougard., Didier Fontenille., Isabelle Adolé Glitho.,

Seasonal distribution and insecticide resistance of *Anopheles gambiae s.l.* in Lomé (in press), 2008.

39-Koffi AA., Chandre F., Tia E., Darriet F., Touré M., N'guessan R., Konan Y L., Daonno J M C., Carnevale P.

Résistance aux pyréthrinoïdes chez les populations d'*An. gambiae s.l.* de la Côte d'Ivoire, 2001. Rapport MIM/AFRO/OMS/TDR.

40-Martinez-Torres D., Chandre F., Williamson M.S., F. Darriet F., Berge B.J., Devonshire A.L., Guillet P., Pasteur N., Pauron D.

Molecular characterization of pyrethrinoid knock down resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae s.s.*, 1998. *Insect Mol Biol* 7: 179-84

41-OMS.

Stratégies de lutte contre le paludisme dans la région africaine et étapes pour leur mise en œuvre, 1998. Cahiers Techniques.

42-OMS.

The Africa Malaria Report 2003, WHO/CDS/MAL/2003.1093.

43-OMS.

Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS. Lutte contre les vecteurs du paludisme et les autres maladies transmises par les moustiques, 1995. N° 857, Genève.

44-OMS

World Malaria Report 2008. Consensus Scientifique sur le paludisme,

45-Rajendra M., Sonia C., Sibcsiso D., Mthembu B., Sharp L.

The Residual life of Bendiocarb: A Field-Based Evaluation from Mozambique J. Med. Entomol, 2001. 41(2): 130-132.

46-RGPH.

Etude des stratégies de communication utilisées dans la lutte contre le paludisme au centre de santé de référence de la commune IV du district de Bamako. Mémoire Makandjamba Keïta, 2009.

47-Sangaré D.

Dynamique des populations d'*Anopheles gambiae s.l.*, d'*Anopheles funestus* et de *Plasmodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguébougou, juin 2000. (Arrondissement central de Kati). Thèse d'ISFRA, Bamako, Mali.

48-Simbarashe M. Mpofu, Kufa H. Kanyimo., Hieronymo Masendu.

Potential Use of Bendiocarb (Ficam VC) (R) For Malaria Control In An Area Of Zimbabwe 1991. Journal of the American mosquito control association. (7) 4: 536-542.

49-Sir Mc Gregor.

Principe and Practice of Malariology, MALARIA, Vol-2-1988.

50-Soderlund D.M., Blomquist J.R.,

Molecular mechanisms of insecticide resistance, In.Pesticide resistance in arthropods. Roush, R.T. et Tabashnik, B. E (eds), 1990. Chapman on hall, New York: 58-96.

51-Tabachnick WJ.

Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. J. Med. Entomol. 2003 Sep; 40(5):597-606.

52-Tchomtchoua A S.

Etude de la réinfection à *Plasmodium falciparum* chez les enfants âgés de 1-9 an de Missira après clairance parasitaire en zone endémique nord saharienne du Mali. Thèse de médecine, 2008, Bamako, Mali.

53-Touré et coll.,

The current stage of study of malaria vectors and vectorial campaign in West Africa. Trans.r.soc. Trop.Med. hyg.1989, 83, 39-41.

54-Touré Y.T.

Etude de la sensibilité d'*Anopheles gambiae s.l* aux insecticides dans la zone de savane soudanienne au Mali. Cah. O.R.S.T.O.M., sér.Ent.Méd.et Parasitol. vol.XX, n°2, 1982:125-135

55-Traoré S.K.,

Sensibilité des vecteurs importants du paludisme dans une zone d'inondation du Mali. Mémoire de fin d'étude, 1986. Ecole Normale Supérieure de Bamako.

56-Traoré Sékou Fantamady.

Etude du comportement et de la contribution à la transmission du paludisme des membres du complexe *Anopheles gambiae* à Banambani (Cerlce de Kati). Thèse de 3^{eme} cycle ISFRA, 1989. Bamako-Mali

57-Vulule et coll.,

Vulule JM, Beach RF, Atieli FK, Mount DI et Mwanfi RW. Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated betnets and curtains in Kenya, Med Veter Entomol, 1994, 8, 71-75.

58-Ware G. W., Whitacre D. M.,

The Pesticide Book, 6th Ed. Meister Media Worldwide, Willom (ISBN1892829- 11 -8), 2004, pp. 496.

59-Weill M., Chandre F., Brengues C., Manguin S., Akogbéto M., Pasteur., Guillet P., Raymond M.

The *kdr* mutation occurs in the Mopti form of *Anopheles gambiae* s.s. through introgression, 2000. *Insect Mol. Biol.* 9: 451–455.

60-WHO.

Guidelines for testing mosquito adulticides for Indoor Residual Spraying and treatment of mosquito nets. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3.

61-WHO/CDS/WHOPES/2002.5 Rev.

Lutte contre les vecteurs de paludisme. Critère et procédures de prise de décisions pour une utilisation raisonnée des insecticides.

62-WHO.

Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces, 1998. Document WHO/CDS/MAL/98.12, Geneva, Switzerland.

63-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, 2002. *Insect Mol. Biol.* 11, 11–19.

64-www.djigui-espoir.com/index.php?id=107.

Nouvelles recommandations de l’OMS sur les moustiquaires imprégnées d’insecticides (16 Août 2007/Genève /Nairobi).

X-FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom: COULIBALY

Prénom: Chaka Ousmane

Titre : Test d'efficacité de la K-Othrine[®] et du Ficam[®] en pulvérisation intra domiciliaire dans la lutte contre le vecteur du paludisme.

Année de Soutenance: 2011

Ville de Soutenance: Bamako

Pays d'origine: Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS).

Secteur d'intérêt: Santé publique, Entomologie et Parasitologie médicale.

RESUME:

Le paludisme est une maladie parasitaire grave qui tue plus d'un million d'enfants de 0 à 5 ans chaque année dans le monde. La lutte anti vectorielle, notamment la réduction du contact homme-vecteur est l'un des axes prioritaires de contrôle de cette maladie. Dans ce cadre, l'OMS recommande aux Programmes Nationaux de Lutte contre le paludisme la vulgarisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides et la distribution de ces moustiquaires à tous les habitants gratuitement ou à un prix fortement subventionné.

Cette étude avait donc pour but de tester l'efficacité et la rémanence de la K-Othrine[®] et du Ficam[®] en PID.

L'étude a été menée dans 2 sites : Taliko où la K-Othrine[®] a été utilisé pour pulvériser les murs et Djicoroni Para où le Ficam[®] a été utilisé.

Les tests d'efficacité et de rémanence ont été effectués sur des femelles d'*An. gambiae s.l.*, originaire du Mali maintenue à l'insectarium du MRTC de Bamako.

Les 2 insecticides étaient efficaces une semaine après la PID contre la souche d'*An. gambiae s.l* avec 100% de mortalité.

Le taux de mortalité de la souche après exposition aux 2 insecticides est resté à 100% jusqu'à 16 semaine après la PID.

Des échantillons de moustique collectés sur les 2 sites ont été traités au laboratoire. La population d'*An. gambiae s.l* du mois de mars étaient composées de 86% d'*An. gambiae s.s.* et de 14% d'*An. arabiensis* par contre pendant les mois pluvieux (août et septembre) nous avons obtenu 100% d'*An. gambiae s.s.*

En saison sèche (mois de mars), la forme M est prédominante par rapport à la forme S, par contre pendant les mois pluvieux nous avons constaté une prédominance de la forme S avec respectivement 63% en mois août et 100% en mois de septembre.

L'allèle de résistance R a été identifié chez toutes les formes moléculaires d'*An. gambiae s.s.*

Mots clés: Paludisme, insecticide, efficacité, rémanence, résistance.

XI-DESCRIPTIVE CARD

Name: COULIBALY

First name: Chaka Ousmane

Title: Efficacy test of K-Othrine and Ficam in residual spraying in the fight against the malaria vector.

Year of defense: 2011

City of defense: Bamako

Country of origin: Mali

Place of deposit: Library of the Faculty of Medecine, Pharmacie and Dentistry (FMPOS).

Sector of interest: Health, Medical Entomology and Parasitology.

SUMMARY:

Malaria is a serious parasitic disease that kills over a million children from 0 to 5 years each year worldwide. Vector control, including the reduction of human-vector contact is one of the priorities for controlling this disease. In this context, WHO recommends the extension of insecticide-treated nets and distribution of ITNs to all residents free or at heavily subsidized prices to the National Programme of Fight against Malaria. This study therefore aimed to test the effectiveness and persistence of K-Othrine and Ficam in PID.

The study was conducted at 2 sites: Taliko where the K-Othrine was used to spray the walls and Djicoroni Para where we used the Ficam. Efficacy testing and recovery were performed on females of *An. gambiae s.l* from Mali maintained at the insectary of the MRTC in Bamako. The two insecticides are effective one week after the PID against the strain of *An. gambiae s.l*

with 100% mortality.
The mortality rate of strain after exposure to two insecticides remained at 100% up to 16 weeks after the PID.
Mosquito samples collected on two sites were treated in the laboratory. The population of *An. gambiae* s.l of March consisted of 86% of *An. gambiae* s.s. and 14% of *An. arabiensis* by cons during the rainy months (August and September) we have obtained 100% of *An. gambiae* s.s. In the dry season (March), the M form predominates over S form, by cons during the rainy months we found a predominance of the form S with 63% in months of August and 100% in the month of September. The kdr gene was found in all molecular forms of *An. gambiae* s.s.

Keywords: malaria, insecticide efficacy, persistence, resistance.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de cette faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et des condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure

