

Ministère des Enseignements Secondaire, Supérieur,  
Et de la Recherche Scientifique. :

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOIE

\*\*\*\*\*



**THESE**



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-  
STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2008...-2009...

4

**Situation de la transmission du paludisme et de la résistance aux insecticides d'*An. gambiae s.l.* en prélude à la pulvérisation intradomiciliaire à Niala (Bla) et à Niamina (Koulikoro).**

**Présentée et soutenue publiquement le 15 / 11 / 2008**

**Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie**

**Par Monsieur : Mohamed Moumine TRAORE**

**Pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)**

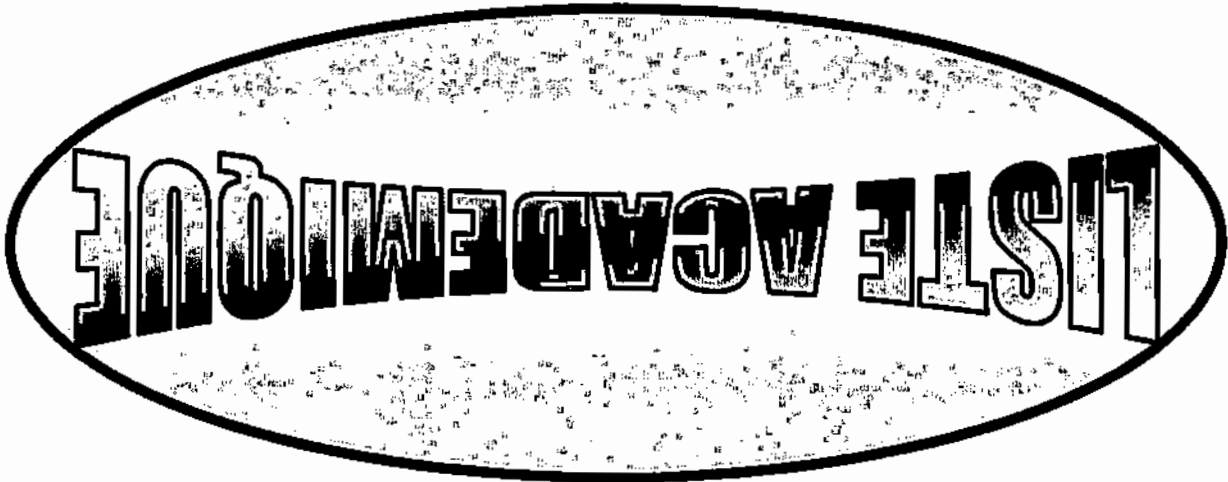
**Jury**

**Président : Pr Amagana DOLO**

**Directeur de Thèse : Pr Sékou F. TRAORE**

**Co-directeur de Thèse : Dr Mamadou B. COULIBALY**

**Membre : Dr Guimogo DOLO**



**LISTE ACADEMIQUE**

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE**  
**ANNEE UNIVERSITAIRE 2008-2009**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN: ANATOLE TOUNKARA – PROFESSEUR**

**1<sup>er</sup> ASSESSEUR: DRISSA DIALLO – MAÎTRE DE CONFERENCES**

**2<sup>ème</sup> ASSESSEUR: SEKOU SIDIBE – MAÎTRE DE CONFERENCE**

**SECRETAIRE PRINCIPAL: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE – PROFESSEUR**

**AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL- CONTROLEUR DES FINANCES**

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie – Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

**LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE**  
**D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES**

**1. PROFESSEURS**

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale Chef de D.E.R.
Mr Abdoul Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

**2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sekou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Reanimation
Mr Tieman COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
Mme TRAORE J THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE  
Mr Nouhoum ONGOÏBA  
Mr Sadio YENA  
Mr Youssouf COULIBALY

Gynéco-Obstétrique  
Anatomie & Chirurgie Générale  
Chirurgie thoracique  
Anesthésie-Reanimation

### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA  
Mr Samba Karim TIMBO  
Mme TOGOLA Fanta KONIPO  
Mr Zimogo Zié SANOGO  
Mme Djeneba DOUMBIA  
Mr Zanafon OUATTARA  
Mr Adama SANGARE  
Mr Sanoussi BAMANI  
Mr Doulaye SACKO  
Mr Ibrahim ALWATA  
Mr Lamine TRAORE  
Mr Mady MAKALOU  
Mr Aly TEMBELY  
Mr Niani MOUNKORO  
Mr Tiémoko D. COULIBALY  
Mr Souleymane TOGORA  
Mr Mohamed KEITA  
Mr Boureima MAÏGA  
Mr Youssouf SOW  
Mr Djibo Mahamane DIANGO  
Mr Moustapha TOURE

Gynéco-Obstétrique  
ORL  
ORL  
Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Urologie  
Orthopédie- Traumatologie  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Orthopédie - Traumatologie  
Ophtalmologie  
Orthopédie-Traumatologie  
Urologie  
Gynécologie/ Obstétrique  
Odontologie  
Odontologie  
ORL  
Gynéco-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-réanimation  
Gynécologie

## D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

### 1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO  
Mr Amadou DIALLO  
Mr Moussa HARAMA  
Mr Ogobara DOUMBO  
Mr Yénimégué Albert DEMBELE  
Mr Anatole TOUNKARA  
Mr Bakary M. CISSE  
Mr Abdourahamane S. MAÏGA  
Mr Adama DIARRA  
Mr Mamadou KONE

Chimie Générale & Minérale  
Biologie  
Chimie Organique  
Parasitologie-Mycologie  
Chimie Organique  
Immunologie  
Biochimie  
Parasitologie  
Physiologie  
Physiologie

### 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE  
Mr Flabou BOUGODOGO  
Mr Amagana DOLO  
Mr Mahamadou CISSE  
Mr Sékou F. M. TRAORE  
Mr Abdoulaye DABO  
Mr Ibrahim I. MAÏGA

Histoembryologie  
Bactériologie – Virologie  
Parasitologie – Mycologie **Chef de D.E.R.**  
Biologie  
Entomologie médicale  
Malacologie – Biologie Animale  
Bactériologie – Virologie

### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA  
Mr Mounirou BABY  
Mr Mahamadou A. THERA  
Mr Moussa Issa DIARRA

Chimie Organique  
Hématologie  
Parasitologie – Mycologie  
Biophysique

Mr Kaourou DOUCOURE  
Mr Bouréma KOURIBA  
Mr Souleymane DIALLO  
Mr Cheick Bougadari TRAORE  
Mr Guimogo DOLO  
Mr Mouctar DIALLO  
Mr Abdoulaye TOURE  
Mr Boubacar TRAORE

Biologie  
Immunologie  
Bactériologie/ Virologie  
Anatomie pathologie  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Biologie/ Parasitologie  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Parasitologie - Mycologie

#### 4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOKO  
Mr Djbril SANGARE  
Mr Bokary Y. SACKO  
Mr Mamadou BA  
Mr Moussa FANE

Entomologie-Moléculaire Médicale  
Entomologie-Moléculaire Médicale  
Biochimie  
Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale  
Parasitologie /Entomologie

### D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

#### 1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE  
Mr Mahamane MAÏGA  
Mr Baba KOUMARE  
Mr Moussa TRAORE  
Mr Issa TRAORE  
Mr Hamar A. TRAORE  
Mr Dapa Aly DIALLO  
Mr Moussa Y. MAIGA  
Mr Somita KEITA  
Mr Boubacar DIALLO  
Mr Toumani SIDIBE

Cardiologie  
Néphrologie  
Psychiatrie-Chef de D.E.R.  
Neurologie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Hématologie  
Gastro-entérologie-Hépatologie  
Dermato-Léprologie  
Cardiologie  
Pédiatrie

#### 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA  
Mr Abdel Kader TRAORE  
Mr Siaka SIDIBE  
Mr Mamadou DEMBELE  
Mr Mamady KANE  
Mr Sahare FONGORO  
Mr Bakoroba COULIBALY  
Mr Bou DIAKITE  
Mr Bougouzié SANOGO  
Mme SIDIBE Assa TRAORE  
Mr Adama D. KEITA  
Mr Sounkalo DAO

Pneumo-Phtisiologie  
Médecine Interne  
Radiologie  
Médecine Interne  
Radiologie  
Néphrologie  
Psychiatrie  
Psychiatrie  
Gastro-entérologie  
Endocrinologie  
Radiologie  
Maladies infectieuses

#### 3- MAITRES ASSISTANTS

Mme TRAORE Mariam SYLLA  
Mme Habibatou DIAWARA  
Mr Daouda K. MINTA  
Mr Kassoum SANOGO  
Mr Seydou DIAKITE  
Mr Arouna TOGORA  
Mme DIARRA Assétou SOUCKO

Pédiatrie  
Dermatologie  
Maladies Infectieuses  
Cardiologie  
Cardiologie  
Psychiatrie  
Médecine interne

Mr Boubacar TOGO  
Mr Mahamadou TOURE  
Mr Idrissa A. CISSE  
Mr Mamadou B. DIARRA  
Mr Anselme KONATE  
Mr Moussa T. DIARRA  
Mr Souleymane DIALLO  
Mr Souleymane COULIBALY  
Mr Cheick Oumar GUINTO

Pédiatrie  
Radiologie  
Dermatologie  
Cardiologie  
Hépto-gastro-entérologie  
Hépto-gastro-entérologie  
Pneumologie  
Psychologie  
Neurologie

### D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

#### 1. PROFESSEUR

Mr Gaoussou KANOUTE  
Mr Ousmane DOUMBIA  
Mr Elimane MARIKO

Chimie Analytique Chef de D.E.R  
Pharmacie Chimique  
Pharmacologie

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO  
Mr Alou KEITA  
Mr Bénéoit Yaranga KOUMARE  
Mr Ababacar I. MAÏGA

Matières Médicales  
Galénique  
Chimie analytique  
Toxicologie

#### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE  
Mne Rokia SANOGO  
Mr Saibou MAIGA  
Mr Ousmane KOITA  
Mr Yaya COULIBALY

Galénique  
Pharmacognosie  
Législation  
Parasitologie Moléculaire  
Législation

### D.E.R. SANTE PUBLIQUE

#### 1. PROFESSEUR

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique, Chef de D.E.R

#### 2. MAÎTRE DE CONFERENCES

Mr Moussa A. MAÏGA  
Mr Mamadou Souncalo TRAORE

Santé Publique  
Santé Publique

#### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA  
Mr Hamadoun SANGHO  
Mr Massambou SACKO  
Mr Alassane A. DICKO  
Mr Samba DIOP  
Mr Seydou DOUMBIA  
Mr Akory AG IKNANE  
Mr Hammadoun Aly SANGO

Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique  
Anthropologie Médicale  
Epidémiologie  
Santé Publique  
Santé Publique

#### **4. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIÉRO  
Mr Seydou DIARRA

Biostatistique  
Anthropologie Médicale

#### **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA  
Mr Boubou DIARRA  
Mr Salikou SANOGO  
Mr Boubacar KANTE  
Mr Souleymane GUINDO  
Mme DEMBELE Sira DIARRA  
Mr Modibo DIARRA  
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA  
Mr Mahamadou TRAORE  
Mr Yaya COULIBALY  
Mr Lassine SIDIBE

Botanique  
Bactériologie  
Physique  
Galénique  
Gestion  
Mathématiques  
Nutrition  
Hygiène du Milieu  
Génétique  
Législation  
Chimie Organique

#### **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA  
Pr. Babacar FAYE  
Pr. Mounirou CISS  
Pr Amadou Papa Diop  
Pr. Lamine GAYE

Bromatologie  
Pharmacodynamie  
Hydrologie  
Biochimie.  
Physiologie

**DEDICACE**



## DEDICACES

Je dédie ce travail:

- A ALLAH le tout puissant miséricordieux, vous qui savez tout, sans la bénédiction duquel rien ne serait possible, et à son prophète (SLS) merci infiniment d'avoir rendu ce travail possible.
  
- Au père de tous Abdramane Traoré respectueusement appelé Ba, l'infatigable travailleur au service de la famille. Ton dévouement et tes consacrations pour la famille constituent un exemple pour tous. Ce travail est un des résultats auxquels tu as apporté ton immense contribution, à ce titre il est tien plus que toute autre personne.
  
- A mon père Moumine Moussa TRAORE, ta rigueur, ta complicité, ton amitié et ton sens élevé du perfectionnisme ont constitué toute ma vie un cocktail dont le goût à la fois sucré et amère ont forgé le petit Mohamed jusqu'au jour d'aujourd'hui. Trouve ici toute ma gratitude.
  
- A ma très chère maman, Fatoumata SALAMANTA, je suis une somme d'expérience dont la sienne à sans nulle doute été la plus importante et la plus déterminante. Ton indulgence, ton sens élevé du pardon, le courage avec lequel tu as abordé les rudes épreuves de ta vie, Oh ! Combien nombreuses ont constitué une vitrine pour moi. Trouve ici le début de ton réconfort

- A mes oncles : Lassana Traoré, Boubacar Traoré, Bréhima Traoré, Mama Sininta et tantes : Assan Berthé, Balkissa Maïga, Dickel Diop, tante Nadia, Djarata Traoré, Kadia Traoré, Salimata Traoré vos soutiens, conseils, et assistances ne m'ont jamais manqué. Toute ma reconnaissance envers vous.
  
- A mes frères et sœurs, vous m'avez si respecté, que le bon Dieu vous garde et vous donne satisfaction dans vos entreprises futures.
  
- A mes cousins et cousines, je penserai toujours très fort à vous.
  
- A mes grands parents : Feu Moussa Traoré, Feu Moussa Salamanta, Feue Fata Sininta, Awa Sanogo vous m'avez tellement chérie, tellement chouchouté, trouvez ici un hommage bien mérité.
  
- A ma bien aimée Fanta Sow, si l'amour n'avait pas existé je l'aurai inventé rien que pour être avec toi, personne d'autre que toi. Les mots me manquent pour exprimer ce que je ressens, une chose est sûre, je ne saurai jamais te dire assez merci.
  
- A l'équipe du laboratoire de génomics et proteomics : Dr Coulibaly Mamadou B., Dr Diallo Brehima, Amadou Guindo, Mamadou Konaté, Amadou Sékou Traoré. Toute ma gratitude envers vous qui aviez été mes plus proches collaborateurs avec qui j'ai partagé tellement de bon moment. J'ose espérer, continuer à avoir de si bons moments avec vous.

**REMERCIEMENTS**

## **REMERCIEMENTS**

A mon pays le MALI et à ses autorités, d'avoir rendu l'enseignement gratuit.

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à la faculté en particulier :

- Mon maître et oncle Lassana TRAORE
- Mr. Hamou TOURE
- Mr. Hama TIMBINE
- Mr. Moussa OUOLOGUEME
- Le Professeur Yéya T. TOURE
- Le Professeur Séckou F. TRAORE
- Le Professeur Abdel Karim KOUMARE
- Le Professeur Gangaly DIALLO

A l'ensemble du corps professoral de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odonto-stomatologie.

A tout le personnel de la bibliothèque de la FMPOS.

A tout le personnel du Centre de Recherche et de Formation sur le paludisme de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie (MRTC/FMPOS), en particulier : Dr Djibril Sangaré, Dr Mahamadou Touré, Dr Seydou Doumbia, Dr Guimogo Dolo, , Dr Yaya Coulibaly, Dr Nafomo Sogoba, Dr Housseini Dolo, Adama Dao, Alpha Yaro, Abdallah Diallo, Aboudramane Fofana, Boubacar Coulibaly, Moussa Diallo, Oumou Niaré, Ibrahima Baber, Ibrahim Moussa Sissoko, Moussa Keita, Michel Coulibaly, Lamine Soumaoro, Mamadou Konaté.

Dr Benoît Dembélé, merci cher aîné pour ta disponibilité et pour ton assistance.

Adama Sacko : tu es un homme exceptionnel, je me rappelle encore mon premier jour au MRTC, tu m'as présenté dans toutes les unités. De ce jour à aujourd'hui tu as toujours été présent chaque fois que j'ai eu besoin de toi.

A tous les internes et médecins du MRTC : Amadou Guindo, Dr Mandjou Sacko, Dr Bréhima Diakité, Dr Yaya Kassogué, Dr Dramane Sanogo, Dr Siaka Konaté, Siaka Y. Coulibaly, Salif Doumbia, Boué Diallo.

Aux sieurs Dr. Sakaï affectueusement appelé grand père et S. Karambé, merci infiniment pour votre disponibilité et votre soutien.

Au vieux Abdourahamane Dicko, vous avez toujours su nous donner le sourire chaque fois que nous en avons eu besoin.

A tous les informaticiens du MRTC/DEAP : Sidy Soumaré, Mady Diarra, Amadou Diallo, Madame Soumaré Salimata.

A tous les chauffeurs du MRTC : Abdoulaye Koné, Mamadou Keïta, Yoro Sidibé, Moro Diakité, Moumine Diallo, Madou Diallo, Issouf Oueleguem, Adama Dembélé.

Aux garçons de salle du MRTC, Bemba Diarra et Abdoulaye Coulibaly.

A la grande famille des bâtisseurs, c'est le moment de vous réaffirmer toute ma gratitude et ma reconnaissance, pour tous les bons moments que j'ai passé avec vous et j'espère qui vont continuer.

A la famille Sacko du « Point G » j'ai toujours été bien accueillie chez vous, et je me suis toujours senti en famille avec vous, je penserai toujours fort à vous.

A mes amis : Baba Cissé, Mohamed Coulibaly, Bougou Coulibaly, Idrissa Coulibaly, Yaya Diabaté, Yaya Sinayoko, Abdoulaye M. Bagayogo, Idrissa Coulibaly dit Papi et à tous mes amis des 300 logements.

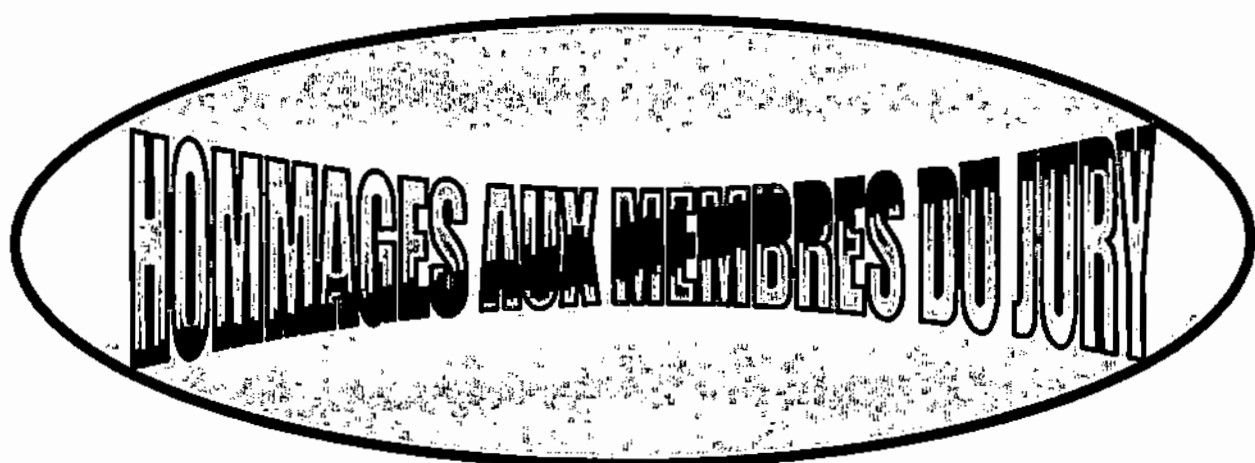
A mes amies : Aminata Traoré, Agnès Coulibaly, Awa Dicko, Bilkissou Yagoré

A toute l'équipe du service de chirurgie générale du CHU Gabriel TOURE.

A tous ceux qui ont un jour constitué une entrave à mon épanouissement, merci car vous m'avez aussi donné plus de cœur.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Recevez ici notre plus grande reconnaissance, partagez avec nous notre plus grande joie, nous ne vous dirons jamais assez MERCI.



**HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY**

**A notre Maître et Président du jury**

**Professeur Amagana Dolo**

Maître de conférences agrégé en parasitologie-mycologie à la FMPOS. Responsable de l'enseignement de la parasitologie à la FMPOS, chef de l'unité d'Immunologie au MRTC.

Cher Maître c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Votre rigueur scientifique, votre amour pour le travail bien fait font de vous un maître exemplaire et témoigne aussi de l'importance que vous attachez à la formation. Vos nombreuses tâches ne vous ont pas empêché d'apporter votre contribution à ce modeste travail. Nous en sommes honorés et c'est l'occasion ici de vous dire infiniment merci et croyez en notre reconnaissance et notre grande admiration.

**A notre Maître et juge**

**Dr Guimogo DOLO**

PhD en parasitologie entomologie médicale, responsable de l'enseignement de la génétique à la FMPOS, Chef de l'unité biologie moléculaire du MRTC.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document.

Nous avons apprécié vos qualités humaine et scientifique. Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre patience font de vous un maître respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.



**A notre Maître et co-directeur de thèse**

**Docteur Mamadou B. COULIBALY**

Docteur en Pharmacie, PhD en sciences biologiques, chef de la section génomique et proteomique du MRTC.

Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de cette thèse. Votre rigueur et votre amour pour le travail bien accompli ainsi que votre sens critique ont fait de vous un homme apprécié. Vous constituez un exemple pour la nouvelle génération de chercheur à laquelle nous espérons faire parti. Soyez rassuré de notre profond attachement et de notre entière confiance.

**A notre maître et directeur de thèse**

**Professeur Sékou Fantamady Traoré,**

PhD en entomologie médicale,

Responsable de l'enseignement de biologie cellulaire à la FMPOS.

Chef de la section entomologie du MRTC

Co-directeur du MRTC

Cher maître, nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail.

Vos qualités humaines, scientifiques et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un maître respectable et admiré.

Nous sommes très fiers d'être parmi vos élèves. Soyez rassuré, cher maître de notre profonde gratitude et de nos sincères remerciements.



**LISTE DES ABBREVIATIONS**

## Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**An.arabiensis** : *Anopheles arabiensis*

**An.funestus**: *Anopheles funestes*

**An.gambiae**: *Anopheles gambiae*

**An.gambiae s.l.**: *Anopheles gambiae sens large*

**An.quadriannulatus** : *Anopheles quadriannularus*

**CDC** : center of disease control

**cm**: centimètre

**CSP**: circumsp protéine

**DDT**: Dichloro diphenil trichloroethane

**DL 50** : dose létale 50

**ELISA** : enzyme linked immuno-sorbent assay

**FMPOS** : faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie

**g/m<sup>2</sup>** : gramme par mètre carre

**IAS** : indice d'antigène sporozoïtique

**Kdr** : Knock down résistance

**M**: mètre

**M<sup>2</sup>**: mètre carre

**m.a** : agressivité

**mg/m<sup>2</sup>** : milligramme par mètre carre

**OMS**: organisation mondiale de la santé

**P.falciparum**: *Plasmodium falciparum*

**P. ovale**: *Plasmodium ovale*

**P. malariae** : *Plasmodium malariae*

**P. vivax** : *Plasmodium vivax*

**PCR** : Polymerase chain reaction

**PID**: pulvérisation intradomiciliaire

**PNLP** : programme national de lutte contre le paludisme

**PNUD**: programme des nations unies pour le développement

**RBM** : Roll back malaria

**TIE** : taux d'inoculation entomologique

**UNICEF** : union des nations unies pour l'enfance

% : pourcentage

# SUMMARY

## Sommaire

<b>1. Introduction.....</b>	<b>1-3</b>
<b>2. Objectifs.....</b>	<b>4</b>
2.1 Objectif général.....	4
2.2 Objectifs spécifiques.....	4
<b>3. Généralités.....</b>	<b>5</b>
3.1 Paludisme.....	5
3.2. Les <i>Anopheles</i> .....	7
3.2.1. Systématique.....	7
3.2.2. Morphologie.....	7
3.2.3. Biologie.....	7
3.3. LA lutte anti-vectorielle.....	8
3.3.1. Les méthodes de lutte non chimiques.....	8
3.3.1.1 Lutte mécanique.....	8
3.3.1.2 Lutte biologique.....	8
3.3.1.3 La lutte physique.....	9
3.3.1.4 Lutte génétique.....	10
3.3.2 Les méthodes de lutte chimique : pulvérisation intra domiciliaire.....	10
3.3.2.1 Comportement des vecteurs face aux traitements domiciliaire.....	10
3.3.2.2 Toxicité et effet excito-répulsif des insecticides.....	12
3.3.2.3 Insecticide : choix, sécurité d'emploi, intoxication.....	12
3.3.2.4 Application des insecticides.....	14
3.3.2.4.1 Organisation.....	14
3.3.2.4.2 Formulation, spécifications, dosage, cycle.....	14
3.3.2.4.3 Modalité d'application et équipements.....	15
3.4 La résistance des vecteurs aux insecticides.....	16
3.4.1 Définition de la résistance.....	16

3.4.2 Principaux mécanismes de résistance.....	16
3.4.2.1 Resistances de comportement.....	16
3.4.2.2 Resistances physiologiques.....	16
3.4.2.3 Attitude face aux résistances.....	17
3.5 Définition de la rémanence.....	17
<b>4. Méthodologie.....</b>	<b>18</b>
4.1 Sites D'étude.....	18
4.2 Période d'étude.....	20
4.3 Collection et élevage des moustiques.....	20
4.4 Test insecticide .....	20
4.4.1 Test insecticide avec les bouteilles.....	20
4.4.2 Test insecticide avec le bendiocarbe.....	21
4.5. Identification moléculaire des moustiques (procédure, voire annexes.....	21
4.6 Détection du gène <i>kdr</i> .....	22
4.7 Etude des paramètres entomologiques.....	22
4.8 Analyses et interprétations des résultats.....	22
<b>5. Résultats.....</b>	<b>23</b>
5.1 Composition de la population vectrice dans les sites d'étude.....	23
5.1.1 Fréquence des espèces d' <i>An. gambiae s.l</i> .....	23
5.1.2 Fréquence des formes moléculaires d' <i>An. gambiae s.s.</i> .....	24
5.2. Etude de la transmission du paludisme dans les différents villages des cercles de Koulikoro et Bla.....	25
5.2.1 Détermination de l'agressivité et de l'indice d'antigène sporozoïtique.....	25
5.2.2 Détermination du taux d'inoculation entomologique.....	26

5.3 Test de susceptibilité d' <i>An gambiae s.l</i> à la lambdacyhalothrine et au bendiocarbe.....	27
5.3.1 Temps de Knock down (kdt) dans les villages des cercles de Bla et Koulikoro.....	27
5.3.1.1 Mortalité d' <i>An. gambiae s.l.</i> à la lambdacyhalothrine dans les villages des cercles de Bla et Koulikoro.....	31
5.3.2. Détermination de la fréquence du gène <i>kdr</i> chez <i>An. gambiae s.l.</i> .....	32
5.4 Susceptibilité d' <i>An.gambiae s.l</i> au bendiocarbe.....	33
5.4.1 Susceptibilité d' <i>An.gambiae s.l</i> au bendiocarbe à Sèguèla cercle de Koulikoro.....	33
5.4.2 Susceptibilité d' <i>An. gambiae s.l</i> au bendiocarbe à Tia cercle de Bla.....	34
<b>6. Commentaires et discussions.....</b>	<b>35</b>
6.1 Composition vectorielle.....	35
6.2 Susceptibilité d' <i>An.gambiae s.l</i> aux insecticides.....	36
6.2.1 Susceptibilité à La lambdacyhalothrine à 30mg/m <sup>2</sup> .....	36
6.2.2 Susceptibilité au bendiocarbe .....	36
6.2.3 Distribution du gène <i>kdr</i> .....	37
6.3 Etudes entomologiques de la transmission.....	38
<b>7. Conclusion et Recommandations.....</b>	<b>39</b>
<b>8. Bibliographies.....</b>	<b>40-46</b>



## LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : cycle parasitaire du paludisme chez le moustique et chez l'homme..... 6
- Figure 2** : femelle d'*An. Gambiae s.l.* entrain de prendre son repas de sang..... 8
- Figure 3** : Cibles de la lutte antivectorielle au cours du cycle gonothrophique..... 11
- Figure 4** : moyenne d'agressivité et indice d'antigène sporozoïtique par localité d'étude en Octobre 200..... 25
- Figure 5** : Temps de Knock down des moustiques à Niala (Bla) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>)..... 27
- Figure 6** : Temps de Knock down des moustiques à Bagadadji (Bla) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>)..... 28
- Figure 7** : Temps de Knock down des moustiques à Tia (Bla) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>)..... 29
- Figure 8** : Temps de Knock down des moustiques à Kolimana (Koulikoro) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>).....Page 30
- Figure 9** : Taux de mortalité d'*An.gambiae s.l.* 24 heures après exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30mg/m<sup>2</sup>) par localité..... 31
- Figure 10** : Taux de mortalité des moustiques à Sèguèla 24 heures après exposition au bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup>..... 33
- Figure 11** : Taux de mortalité des moustiques à Tia 24 heures après exposition au bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup>..... 34

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Insecticides recommandés pour les pulvérisations intradomiciliaire et/ou l'imprégnation des moustiquaires.....	13
<b>Tableau 2 :</b> Fréquences relatives des espèces d' <i>An.gambiae</i> s.l. dans les différentes localités d'étude en Octobre 2007 après capture par spray-catch.....	23
<b>Tableau 3 :</b> Fréquences relatives des formes moléculaires d' <i>An.gambiae</i> s.s. et <i>An.arabiensis</i> par sites d'étude en Octobre 2007 après capture par spray-catch.....	24
<b>Tableau 4 :</b> Moyenne d'agressivité, Indice d'Antigènes Sporozoïtique et Taux d'inoculation entomologique par localité d'étude en Octobre 2007.....	26
<b>Tableau 5 :</b> récapitulatif des temps de Knock down des moustiques dans les différents villages.....	30
<b>Tableau 6 :</b> Fréquences relatives des génotypes par sites d'étude en Octobre2007.....	32

# INTRODUCTION

## 1. INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile due à un parasite du genre *Plasmodium* transmis par des moustiques du genre *Anophèles*.

Il existe quatre espèces plasmodiales pathogènes pour l'Homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*. Les vecteurs majeurs en Afrique sont les membres du complexe *Anophèles gambiae* et le groupe *Anophèles funestus* (TOURE, 1979).

Environ 300 à 500 millions de cas sont déclarés chaque année avec 1,5 à 2,7 millions de décès, dont 80% en Afrique au sud du Sahara, majoritairement constitué par les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes (OMS 2005).

Au Mali selon un rapport fourni par le PNLN en 2004 la morbidité et la mortalité chez les moins de 5 ans étaient respectivement de 27,16% et 21,13%.

En effet il existe plusieurs méthodes pour prévenir la transmission du paludisme. Cependant La lutte antivectorielle est un moyen général efficace pour cet effet. La lutte chimique par l'utilisation des insecticides à effet rémanents est la plus courante, dominée par l'utilisation des matériels imprégnés d'insecticide. Les pyrétrinoïdes forment le seul groupe d'insecticide autorisé par l'OMS pour l'imprégnation des moustiquaires à cause de leur faible toxicité sur les mammifères et de leur rémanence plus élevée (Zaim et al., 2000).

Au Mali les stratégies de lutte antivectorielle sont essentiellement basées sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide. Différentes études ont montré l'efficacité de l'utilisation de ces moustiquaires imprégnées sur l'incidence du paludisme (Choi HW et al. 1995). Cependant la résistance des vecteurs majeurs du paludisme aux pyrétrinoïdes et à d'autres insecticides (Vulule et al, 1999; Elissa et al,

1993 ; Akogbéto et Yakoubou., 1999 ; Diabaté et al., 2002 ; Fanello et al., 2003), représente un obstacle pour atteindre des objectifs comme la réduction importante du contact homme-vecteur dans le cadre de la réduction de l'incidence du paludisme.

Parmi les mécanismes de résistance, la résistance *kdr* (Knock down résistance), est la forme de résistance la plus courante aux pyrétrinoïdes. Elle est due à une substitution de nucléotide au niveau du gène du site de fixation du canal sodium, et confère aux vecteurs la résistance croisée aux pyrétrinoïdes et au DDT (Ranson H. et al, 2000). En Afrique de l'Ouest, la substitution conduit au changement de la leucine en phénylalanine (TTA en TTT), (Martinez Torres D. et al., 1998). En Afrique de l'Est elle est due au changement de la leucine en serine (TTA en TCA), (Ranson H. et al., 2000). Cependant cette distribution n'est plus d'actualité (Josiane Etang et al., 2006) ont trouvé les deux types de substitution au Cameroun.

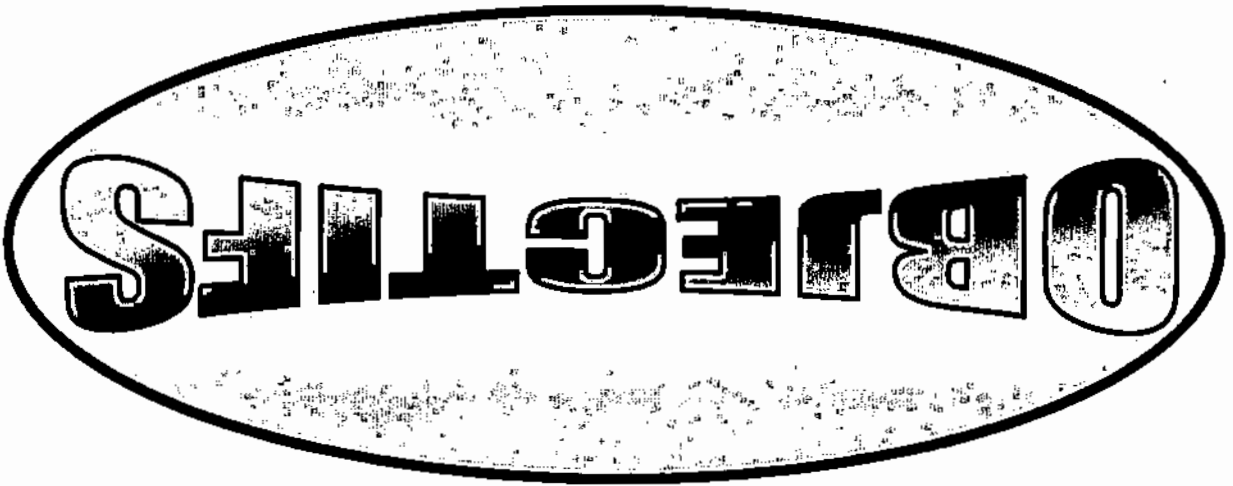
L'utilisation des insecticides dans l'agriculture, et les campagnes d'éradication du paludisme de l'OMS dans les années 1950 et 1960 sont considérées comme les principales raisons de l'apparition de la résistance des vecteurs aux insecticides (Akogbéto et al., 2005).

L'engagement politique à un niveau international vise à soutenir la recherche pour mieux faire face à ce défi.

Le Mali a été sélectionné en décembre 2005 comme un des 15 pays bénéficiaires de l'initiative du président Bush contre le paludisme (PMI). Le principal but du PMI est de réduire de 50% la mortalité imputable au paludisme dans les pays bénéficiaires.

La pulvérisation intra domiciliaire est l'une des composantes importantes de la lutte anti-vectorielle contre le paludisme. Le PNL, a planifié la pulvérisation intra domiciliaire en 2008 avec l'appui de PMI. C'est une première au Mali, à cet effet deux zones endémiques, les cercles de Bla et Koulikoro, ont été choisis comme zones pilotes. Une intervention d'une telle envergure qui vise les moustiques adultes

nécessite au préalable une connaissance du niveau de résistance aux insecticides à choisir pour la cause. Elle nécessite aussi une information sur les paramètres entomologiques. Le phénomène de résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides n'est pas nouveau. Des études ont montré que *Anopheles gambiae* est résistant à la perméthrine et au DDT au sud du Mali (Fanello et al., 2003, Tripet et al., en 2006). Il est nécessaire de connaître le niveau de susceptibilité/résistance des vecteurs avant la pulvérisation intradomiciliaire (PID), compte tenu du fait qu'il n'y a pas eu d'évaluation antérieure dans les zones de Bla et de Koulikoro (retenues pour la PID). Il est aussi nécessaire d'évaluer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme. Ainsi la présente étude a été initiée afin d'évaluer la susceptibilité du complexe *Anopheles gambiae* s.l. à deux insecticides : la lambda cyhalothrine et le bendiocarbe, et de déterminer les paramètres entomologiques du paludisme avant la PID. Elle a en vue, de fournir des informations au PNLP sur l'efficacité des insecticides à utiliser, les doses à utiliser et le niveau de la transmission du paludisme.



## **2. LES OBJECTIFS DE L'ETUDE.**


### **2.1. Objectif général :**

Evaluer la situation de la transmission du paludisme et de la résistance aux insecticides d'*An.gambiae* s.l. en prélude à la pulvérisation-intradomiciliaire.

### **2.2. Objectifs spécifiques :**

- Déterminer le niveau de susceptibilité d'*An.gambiae* s.l. à la lambdacyhalothrine et au bendiocarbe
  
- Déterminer la fréquence du gène *kdr*
  
- Déterminer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme, avant la pulvérisation intradomiciliaire.





**GENERALITES**

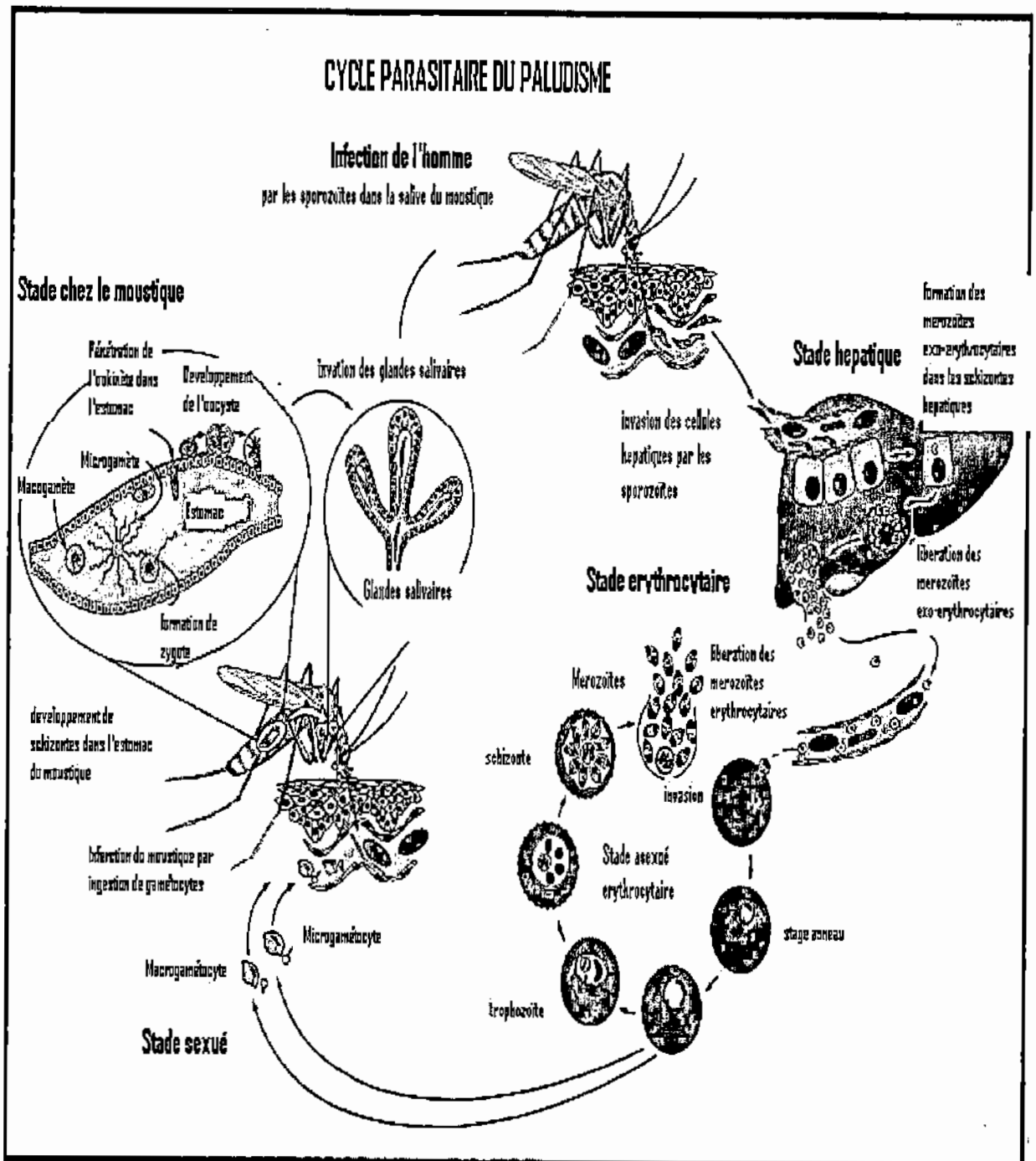
### **3. GENERALITES**

#### **3.1 LE PALUDISME**

##### **3.1.1 Cycle biologique**

Au cours d'un repas de sang un moustique femelle infestant, injecte les sporozoïtes à l'homme (figure1), qui gagnent rapidement le foie : c'est la phase exo-érythrocytaire. Après une phase de multiplication, les parasites sont libérés dans la circulation sanguine et pénètrent dans les hématies (mérozoïtes, trophozoïtes et shizontes), c'est la phase érythrocytaire ou endo-érythrocytaire (figure1).C'est ce dernier qui est responsable des manifestations cliniques de la maladie :

- accès fébriles violents et rythmés
- une destruction massive d'hématies qui entraîne une anémie hémolytique
- un sub-ictère
- une détérioration de l'état général pouvant aboutir à la cachexie.



**Figure 1 :** cycle parasitaire du paludisme chez le moustique et chez l'homme. Source June Mullis Virginia Tech University

## **3.2 LES ANOPHELES**

### **3.2.1 Systématique**

Les Anophèles sont des diptères nématocères appartenant à la famille des *Culinidae*, à la sous famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles* (De Meillon, 1934).

### **3.2.2 Morphologie des Anophèles**

Les adultes se posent obliquement sur les supports, 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 : comportant 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<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup>, peu visibles, représentent les segments génitaux.

### **3.2.3 Biologie**

Les anophèles pondent leurs œufs à la surface de l'eau. Ces œufs, munis de flotteurs remplis d'air éclosent généralement 24 à 36 heures après la ponte (Holstein, 1949).

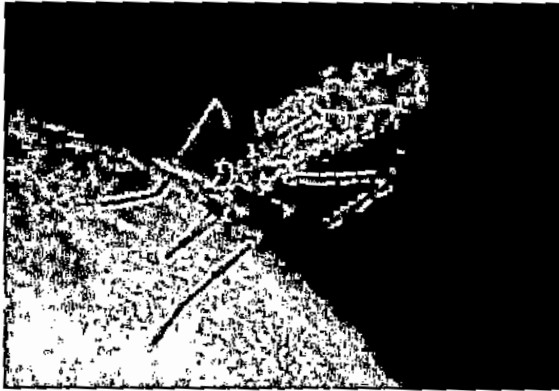
La larve subit trois mues consécutives qui par les modifications morphologiques qu'elles engendrent, la conduisent au stade nymphal.

La nymphe a l'aspect d'une virgule, au bout de 24 à 48 heures elle se transforme en moustique adulte ou imago qui émerge de l'eau.

Seules les femelles sont hématophages, les mâles se nourrissent de suc provenant des plantes.

L'accouplement a lieu quelque instant après l'éclosion, la femelle ne s'accouple qu'une seule fois et reçoit une quantité suffisante de sperme

pour toute sa vie. Le cycle gonothrophique dure 2 jours, chaque 2 jours la femelle prend un repas de sang (figure. 2)



**Figure2** : femelle d'*An.gambiae s.l.* entrain de prendre son repas de sang.

Source

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:AnophelesGambiaemosquito.jpg>

### **3.3 LA LUTTE ANTI-VECTORIELLE**

#### **3.3.1 Les méthodes de lutte non chimiques**

##### **3.3.1.1 Lutte mécanique**

Elle se fait par l'élimination des gîtes larvaires potentiels de moustiques autour des habitations humaines (l'assèchement et le remblaiement des marins, le creusement de dépression etc.).

##### **3.3.1.2 Lutte biologique**

Elle consiste à introduire dans le biotope des moustiques, des organismes d'espèces différentes qui sont leurs ennemies naturelles. C'est le cas du poisson larvivoire *Gambusia affinis* dont l'action est limitée aux eaux permanentes et de la bactérie, *Bacillus sphaericus* qui provoque une mortalité chez les larves de moustique des genres *Culex* et *Anopheles*, à degré moindre sur les *Aedes*.

Les poissons herbivores (carpe) sont utilisés en Chine pour dévorer les herbes qui servent d'abris aux larves de moustiques (Wu *et al.* 1991). Certaines plantes dont les graines mucilagineuses engluent les larves sont également à l'étude.

### 3.3.1.3 La lutte physique

C'est une modification intentionnelle du biotope, qui vise à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent. ([www.malaria.tun](http://www.malaria.tun)).

On distingue

- **Le drainage** qui consiste à faire évacuer les eaux du gîte à l'aide d'un drain vers un milieu récepteur naturel (tel qu'un cours d'eau, un terrain perméable etc.).

- **La mise en boîte** consiste à concentrer les eaux dans les tranchées, et par conséquent réduire la superficie du gîte à empoissonner. Cette méthode est utilisée dans le cas de gîtes importants situés loin d'un milieu récepteur naturel.

-**Le comblement** Certains gîtes peuvent être éliminés à l'aide de matériaux (pierres, débris de construction). Cette méthode est surtout utilisée pour des gîtes de petite superficie, et de profondeur moyenne.

-**Le boisement** Il est bénéfique et rentable de prévoir la plantation d'arbres, comme l'eucalyptus ou autres végétations hydrophiles dans les sols humides regroupant plusieurs résurgences d'eau à faible débit mais d'écoulement continu.

#### **3.3.1.4 Lutte génétique**

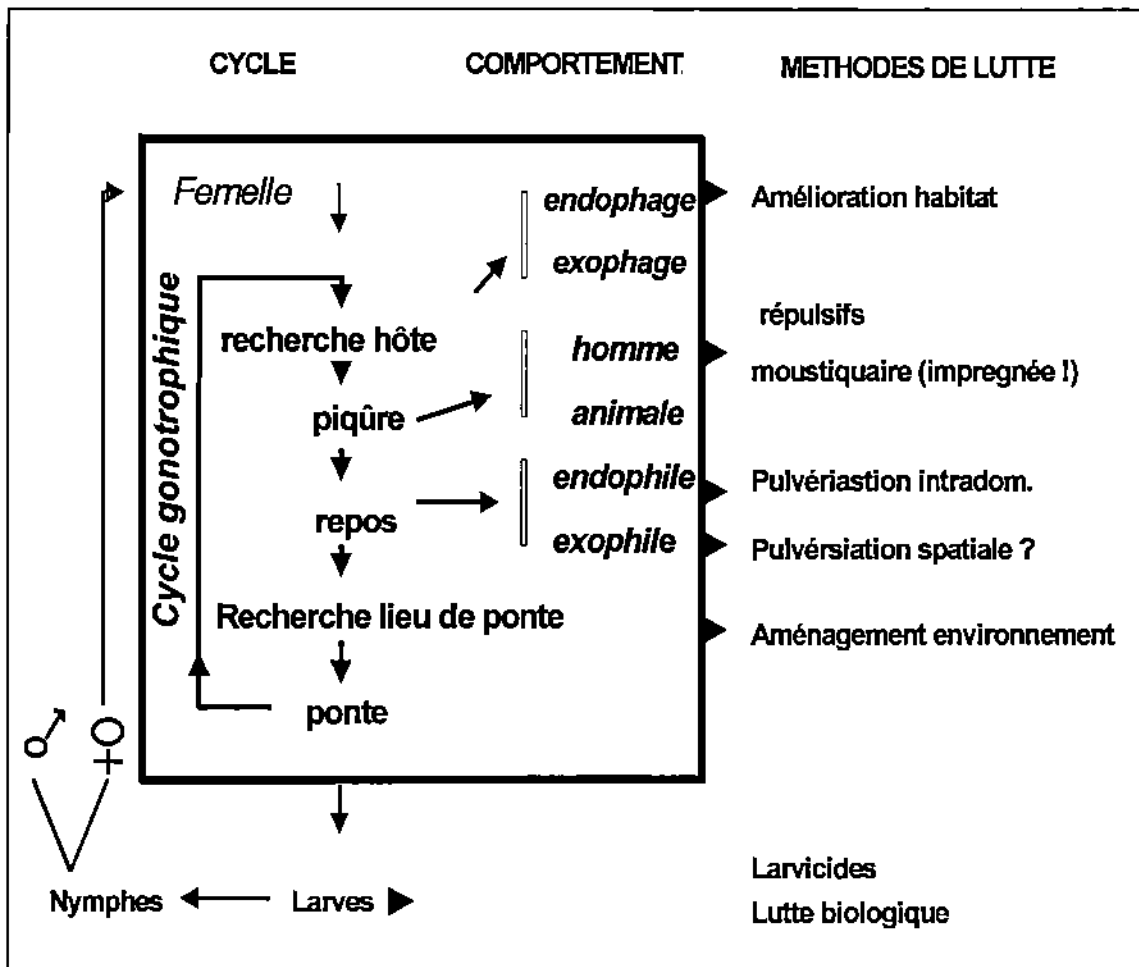
Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement (Tabachnick, 2003). Elle exige nécessairement des connaissances extrêmement poussées, non seulement dans le domaine de la génétique, mais aussi dans celui de l'écologie et de l'éthologie. Vu ces difficultés entravant l'évolution de la lutte non chimique, il faudrait envisager et améliorer d'autres moyens existants, comme par exemple, la lutte chimique.

#### **3.3.2 Les méthodes de lutte chimique : pulvérisation intra domiciliaire**

##### **3.3.2.1 Comportement des vecteurs face aux traitements domiciliaires**

Les maisons constituent de véritables pièges à moustiques, appâtés par les occupants eux même. Après le repas de sang, les moustiques ont leur poids quadruplé et se repose au plus près (murs des maisons). Lorsque les murs des maisons sont enduits de produits toxiques, les moustiques sont tués lors de leur passage dans la maison. La transmission du parasite se trouve ainsi interrompue.

Ce schéma idéal comporte des exceptions. Les moustiques exophiles ne se reposent que très peu de temps à l'intérieur des maisons. Ce comportement est facilité par la précarité, voire l'absence de murs de certaines habitations. Il y a eu beaucoup d'étude sur l'exophilie des moustiques, et son impact sur les traitements insecticides. Hormis les cas très particuliers des abris sans murs, la plupart des anophèles passent une à deux heures au moins dans les maisons ou ils ont piqué. Ils ont alors une très forte probabilité d'être au contact d'insecticides rémanents et sont confrontés au double effet toxique et excito-répulsif du produit



**Figure. 3.** Cibles de la lutte antivectorielle au cours du cycle gonotrophique (d'après Coosman et Carnevale, 1995)



### **3.3.2.2 Toxicité et effet excito-répulsif des insecticides**

L'effet irritant de certains insecticides (DDT, pyrétrinoïdes, certains carbamates), incite les anophèles à quitter plus ou moins rapidement les surfaces traitées. L'effet toxique de certain insecticide diminue rapidement après le traitement (DDT moins de 50% après 2 mois et demi). Dans ces conditions un pourcentage plus élevé d'anophèles pouvaient quitter les maisons traitées sans avoir été tués. A partir de 1965, il a été admis qu'il était impossible d'obtenir l'arrêt de la transmission par le DDT dans les savanes humides holo-endémiques d'Afrique de l'Ouest.

Un effet irritant beaucoup plus brutal se manifesta avec les pyrétrinoïdes, l'effet *knock-down* de ces produits équivaut pratiquement à un effet létal.

### **3.3.2.3 Insecticide : choix, sécurité d'emploi, intoxication**

Les insecticides utilisés en santé publique doivent présenter une totale sécurité pour :

- les habitants des maisons traitées en particulier pour les enfants qui peuvent absorber les produits qui ruissellent sur les murs ou tombent sur le sol ;
- les pulvérisateurs et mélangeurs doivent porter des équipements adéquats, et avoir une formation sur la manipulation des insecticides ;

On évalue la toxicité des insecticides par leur dose létale (DL 50), orale ou dermique. Une surveillance du taux de cholinestérase est exigée pour ceux qui manipulent des organophosphorés et des carbamates. Le DDT a rarement provoqué des accidents aigus si ce n'est par des absorptions volontaires (Jean Mouchet et al, 2004). Les pyrétrinoïdes présentent une grande sécurité d'emploi malgré quelques paresthésies locales et passagères. Les accidents demandent une thérapie spécifique par l'atropine et les oximes pour les organophosphorés, par atropine seule pour les carbamates.

**Tableau 1 :** Insecticides recommandés pour les pulvérisations intradomiciliaires et/ou l'imprégnation des moustiquaires.

Molécule	Classe <sup>1</sup>	PI <sup>2</sup>	MI <sup>2</sup>	Dosage <sup>3</sup>	Toxicité (mg/kg)		Catégorie toxique <sup>4</sup>		Durée d'action sur le mur	Durée d'action sur MI
					Orale	dermique	molécule	formulation		
DDT	OC	+		2 mg/m <sup>2</sup>	113	200/500	II	III	6 mois	
Malathion	OP	+		2 mg/m <sup>2</sup>	1370 à 2100	4000	III	III	2/3 mois	
Fenitrothion	OP	+		2 mg/m <sup>2</sup>	500	3500	II	III	3/6 mois	
Pirimophos-methyl	OP	+		1/2 g/m <sup>2</sup>	2000	> 4500	III	III	2/3 mois	
Bendiocarbe	C	+		0,1/0,4 g/m <sup>2</sup>	40 à 126	> 560	II		2/6 mois	
Propoxur	C	+		1/2 g/m <sup>2</sup>	95	> 2400	II	III	3/6 mois	
Alpha cypermethrine	P	+	+	20/30 mg/m <sup>2</sup>	72	> 2000	II	III	3/6 mois	6 à 12 mois
Cyfluthrine	P	+	+	25/50 mg/m <sup>2</sup>	250	> 5000	II	III	3/6 mois	6 à 12 mois
Deltamethrine	P	+	+	10/25 mg/m <sup>2</sup>	128	2940	II	III	3/6 mois	6 à 12 mois
Lambdacyhalothrine	P	+	+	20/30 mg/m <sup>2</sup>	79	632	II	III	3/6 mois	6 à 12 mois
Bifenthrine	P	+		20/40 mg/m <sup>2</sup>	54	700	II	III	3/6 mois	6 à mois
Permethrine	P		+	500 mg/m <sup>2</sup>	540	2690	III	III	2/6 mois	6 à 12 mois
Ethofenprox	NP	+		300 mg/m <sup>2</sup>	> 10000	> 2100	III	III	3/6 mois	

1. Classe: OC = organochloré; OP = organophosphoré ; C = carbamate ; P = pyrethroïde ; NP = neopyrethroïde
2. PI = pulvérisation intradomiciliaire ; MI = moustiquaires imprégnées
3. Les dosages des OC, OP et C sont en g/m<sup>2</sup> ; les dosages des P et NP sont exprimés en mg/m<sup>2</sup>
4. La classification des insecticides en fonction de leur toxicité.

### **3.3.2.4 Application des insecticides**

#### **3.3.2.4.1 Organisation**

Pour être efficaces, les pulvérisations domiciliaires doivent couvrir toutes les surfaces de toutes les maisons dans une aire de superficie déterminée. Une couverture irrégulière équivaut à une absence de couverture. Ce sont des mesures collectives pour la protection de la communauté. Les pulvérisations intra domiciliaires, qui étaient à la base de l'éradication du paludisme dans les années 1950 à 1970, étaient exécutées par des structures verticales hiérarchisées (Jean Mouchet et al., 2004).

#### **3.3.2.4.2 Formulation, spécifications, dosage, cycle**

Les formulations sont variables en fonction des surfaces à traiter et des desiderata des habitants. Les poudres mouillables sont les produits les plus utilisés. Le DDT en poudre mouillable à 75% de produit actif, a été le support de l'éradication. Les pyréthroïdes sont beaucoup plus dilués et se présentent en poudres mouillables à 5% (quelque fois jusqu'à 20%) (Jean Mouchet et al., 2004). Les produits liquides comme le malathion sont préalablement adsorbés sur un support inerte avant l'adjonction de produits mouillants et dispersants. Le malathion se présente en poudre mouillable à 50%.

Les concentrés émulsifiables sont des dilutions d'un produit actifs dans un solvant organique, souvent le kérosène inflammable, additionné d'un émulsifiant. Ils sont souvent les véhicules des pyréthroïdes tant pour les

applications murales que pour l'imprégnation des moustiquaires en concentré de suspension (Jean Mouchet et al, 2004).

Les suspensions concentrées consistent en des particules d'insecticide additionnées d'un agent mouillant et diluées dans l'eau pour fabriquer une suspension aqueuse. Elles ne sont pas inflammables et sont invisible sur les murs. Les suspensions micro-encapsulées relarguent l'insecticide lentement et augmentent le contact avec l'insecte cible (Jean Mouchet et al., 2004). Les dosages les plus couramment utilisés sont exprimés en mg/m<sup>2</sup> pour les pyrétrinoïdes, en g/m<sup>2</sup> pour les carbamates.

Le cycle des aspersions est semestriel pour le DDT, trimestriel pour les autres produits. Dans les régions à climat tropical humide ou équatorial, elles doivent être renouvelées 2 fois par an pour le DDT, 3-4 fois pour les autres produits. Dans les régions à hivers ou à saison sèche marqué, les pulvérisations de DDT ne sont nécessaires qu'une fois par an, au début de la saison de transmission ; pour les autres produits, deux traitements peuvent être nécessaires.

#### **3.3.2.4.3 Modalité d'application et équipements**

La dilution des suspensions doit être calculée en fonction de la concentration du produit actif dans la formulation et du dosage à appliquer. Les pulvérisations sont en général effectuées avec des appareils à pression préalable. Le pulvérisateur, placé à 45 cm du mur, couvre de haut en bas, des bandes de mur de 75 cm de large (Jean Mouchet et al., 2004). Si le mur a 3 m de hauteur, chaque bande doit être couverte en 6,7 secondes. Un manoeuvre peut traiter, chaque jour, 8 à 10 maisons de 200 m<sup>2</sup> de surface intérieure.

### **3.4 LA RESISTANCE DES VECTEURS AUX INSECTICIDES**

#### **3.4.1 Définition de la résistance**

La résistance aux insecticides a été définie comme la présence, dans une population d'insectes, de spécimens qui survivent à des doses qui, habituellement, tuent l'ensemble de cette population. Cette définition est essentiellement empirique.

#### **3.4.2 Principaux mécanismes de résistance**

On a distingué la/les résistance(s) physiologique(s) et les résistances de comportement.

##### **3.4.2.1 Résistances de comportement**

Elle résulte du changement de comportement d'une population endophile et/ou anthropophile pour un comportement exophile et/ou zoophile. Elle semble être le résultat de la présence spontanée de plusieurs espèces. Certaines d'entre elles ont disparu sous l'impact de la lutte insecticide et d'autres les ont supplantées par ce que plus ou moins vulnérables aux traitements. En Afrique du Sud et au Swaziland, *An.arabiensis* avait disparu et seul était présent *An. quadriannulatus*, zoophage et exophile. Les 2 espèces étant confondues dans l'entité *An. gambiae* s.l., il a été conclu qu'*An. gambiae* était devenu exophile et ne piquait plus l'homme. En fait, jusqu'ici, il n'y a aucune preuve de résistances de comportement.

##### **3.4.2.2 Résistances physiologiques**

Elles résultent de l'apparition de mutations, à une très basse fréquence, dans des populations d'insecticides. Lors des traitements insecticides massifs, ces mutants sont avantagés et tendent à remplacer la population initiale. Ces mutations peuvent concerner :

- la détoxification enzymatique des insecticides par des estérases, mono-oxygénases, transférases;

- des mutations du site d'action des insecticides (récepteurs *gamma-amino-butyric acid* GABA) pour la deltaméthrine ;
- l'altération du canal sodium (gène *kdr* -*knock-down résistance*) pour le DDT et les pyréthrinoides;
- la modification des acétylcholinestérases pour les organophosphorés et les carbamates.

### **3.4.2.3 Attitude face aux résistances**

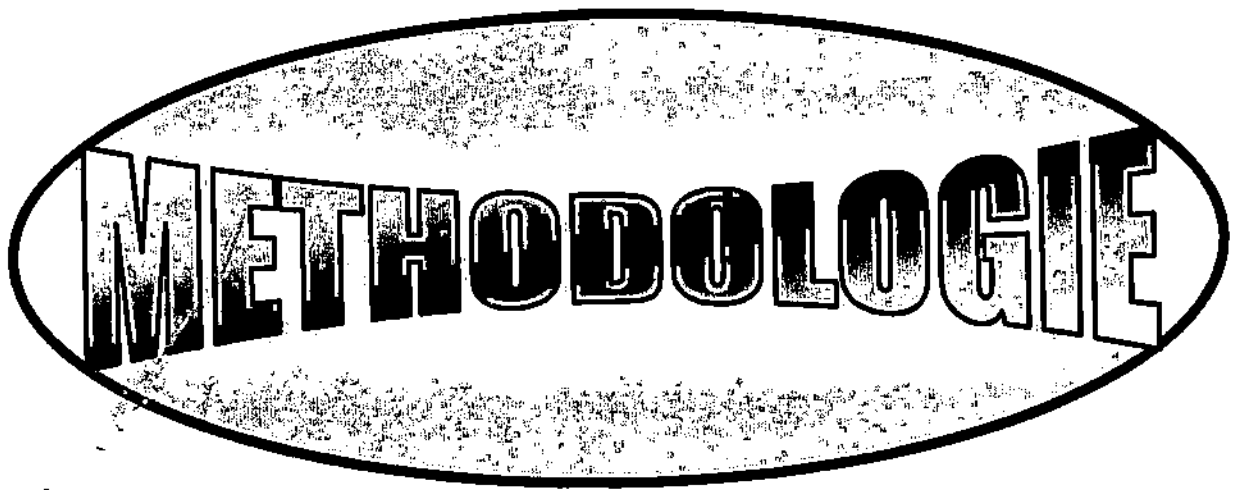
La résistance à un insecticide n'implique pas le rejet de l'arsenal de lutte anti vectorielle. Outre son action létale directe elle agit aussi par son effet répulsif, immédiat ou différé. Plusieurs stratégies plus ou moins sophistiquées, ont été proposées pour retarder le développement de la résistance :

- rotation d'insecticides
- mosaïques d'applications
- mélange d'insecticides ou zones de protection des populations sensibles.

La plupart des propositions sont restées à l'état d'exercice intellectuel étant donné le faible nombre de classes de produits disponibles. Les contraintes des applications et les limitations drastiques dans le choix des insecticides du fait de leur toxicité réduisent d'avantage la mise en œuvre de ces propositions.

### **3.5 Définition de la rémanence :**

La rémanence d'un produit est la période pendant laquelle ce produit reste actif. Dans le cadre de la présente étude, la rémanence des insecticides sur les supports est la période durant laquelle l'insecticide reste efficace contre les moustiques.



**METHODOLOGIE**

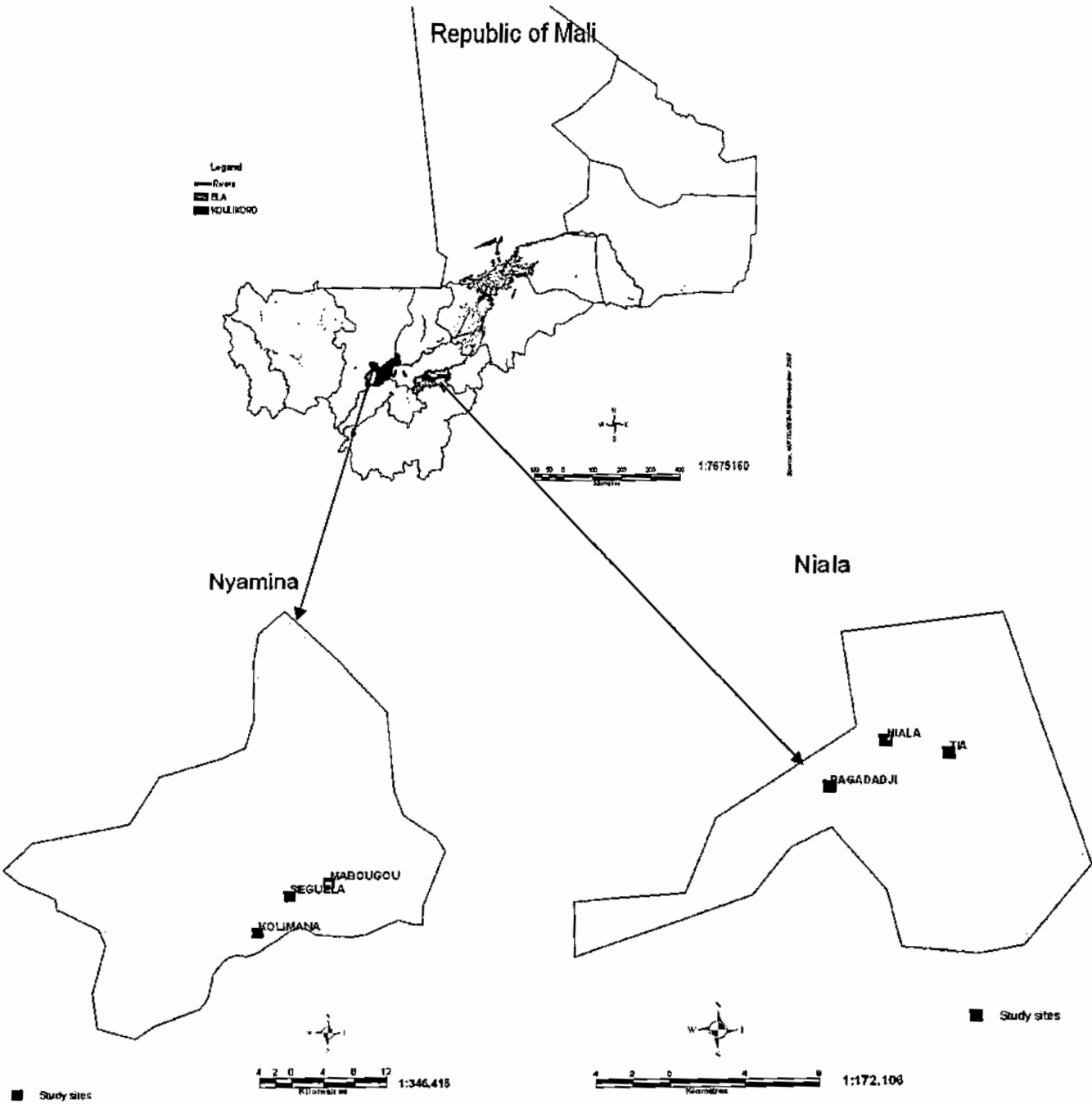
#### **4. METHODOLOGIE**

##### **4.1 Sites D'ETUDE.**

La présente étude s'est déroulée dans les villages de Kolimana, Sèguèla et Nabougou, dans la commune rurale de Nyamina, cercle de Koulikoro en zone de savane soudanienne Nord. La commune rurale de Niamina a une population de 26114 habitants; Koulikoro est situé à 60 km au nord de Bamako.

Dans les villages de Tia, Niala et Bagadadji, dans la commune rurale de Niala, cercle de Bla également en zone de savane soudanienne nord, la commune rurale de Niala a une population de 6652 habitants. Bla est situé à 305 km au nord-est de Bamako.





Source : Unité GIS du MRTC

#### **4.2 Période et type d'étude.**

La présente étude s'est déroulée entre octobre 2007 et janvier 2008. L'étude était de type transversal. Les moustiques ont été capturés en Octobre 2007 (Pic de la transmission du paludisme), et élevés en Novembre. Les échantillons ont été traités en Décembre 2007 et Janvier 2008.

#### **4.3 Collection et élevage des moustiques.**

Les moustiques femelles ont été capturés de deux manières :

D'une part avec les aspirateurs à bouche entre 6 heures et 9 heures du matin. La première génération de ces femelles sauvages a été élevée à l'insectarium. Elle a été utilisée pour les tests insecticides. Les moustiques ont été élevés dans les conditions suivantes : température 25°-28°, humidité relative 70%- 80%, photo périodicité 12 heures sur 24heures.

D'autre part, par spray-catch entre 15 heures et 18 heures pour déterminer certains paramètres entomologiques et la composition vectorielle. Ces moustiques ont été conservés sur du silicagel à la température ambiante.

#### **4.4 Tests Insecticides**

##### **4.4.1 Tests insecticides avec les bouteilles (CDC : Brogdon, 1998), pour la lambdacyhalothrine (procédure, voire annexes)**

###### **4.4.1.2 Matériels**

- bouteilles de 250 ml
- acétone
- solution d'insecticide
- une pipette pour l'acétone et une pipette pour l'insecticide
- un timer
- un aspirateur à bouche
- des moustiques adultes

#### **4.4.1.3 Conditions du test**

Les tests ont été effectués au laboratoire à 25°C avec 80% d'humidité relative. Après exposition, les moustiques ont reçu une solution de jus sucré à 5%, et ont été conservés pendant 24 heures à l'insectarium dans les mêmes conditions que l'élevage, dix moustiques étaient utilisés par bouteille.

Les kdt50 et 95 représentent respectivement le temps pour lequel 50% et 95% des moustiques sont Knock down. La susceptibilité a été déterminée selon les recommandations de l'OMS en 1998

#### **4.4.2 Tests insecticides avec le bendiocarbe**

##### **4.4.2.1 Condition du test**

Les mêmes conditions ont été respectées comme décrites ci-dessus

##### **4.4.2.2 Procédure des tests insecticides avec le bendiocarbe**

Les cages confectionnées avec du papier wattman ont été utilisées. Pour les cages tests le papier wattman était traité avec une dose de 200mg par m<sup>2</sup>. Les cages témoins n'ont rien reçu. Le test a été fait avec 20 moustiques par cage, il a duré 1 heure de temps. Les moustiques ont eu du jus sucré à 5% après le test, la mortalité a été évaluée à 24 heures.

La susceptibilité a été déterminée selon les recommandations de l'OMS en 1998

#### **4.5 Identification moléculaire des moustiques (procédure, voire annexes)**

Les moustiques identifiés sont issus des captures par spray-catch. L'identification a concerné seulement le complexe *An. gambiae* s.l. L'extraction d'ADN a été faite selon le Protocole de (Collins et al., 1987). L'identification des espèces et des formes moléculaires a été faite par la PCR selon Fanello et al. (2002).

#### **4.6 Détection du gène *kdr* (procédure, voire annexes)**

Les moustiques issus des tests insecticides avec la lambda-cyhalothrine ont été utilisés pour la détection du gène *kdr*. Il a été identifié par la PCR élongation par fluorescence (Tripet et al., en 2006). L'ADN a été extrait avec le même Protocole que l'identification moléculaire.

#### **4.7 Etude des paramètres entomologiques.**

##### **4.7.1 Détermination de l'agressivité**

L'agressivité a été obtenue en faisant le rapport des moustiques femelles gorgés et semi-gravides, capturés au *spray-catch*, sur le nombre de dormeurs par habitation prospectée.

##### **4.7.2 Détermination de l'indice d'antigène sporozoïtique (IAS) et du taux d'inoculation entomologique (TIE) (procédure de l'ELISA, voire annexes)**

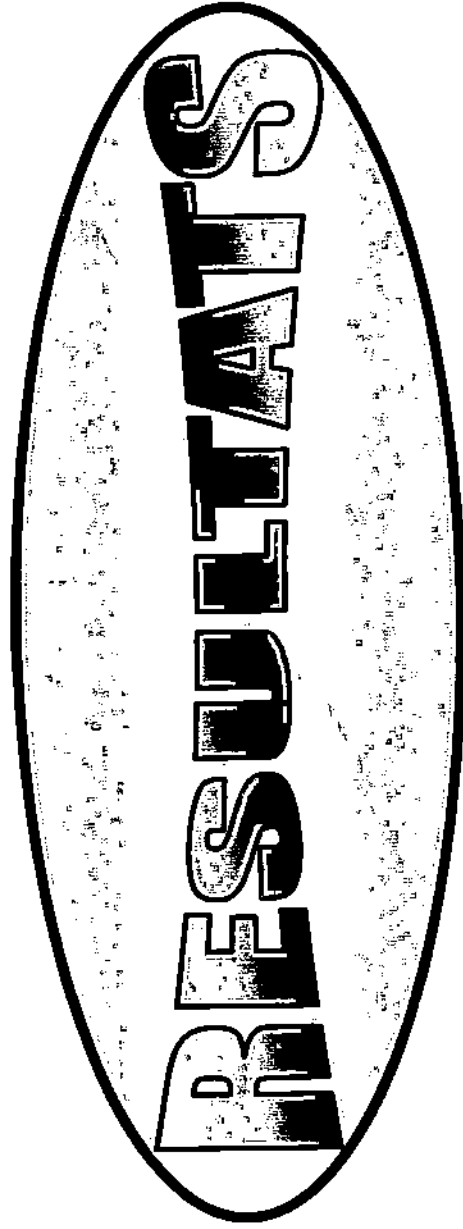
Les moustiques issus du *spray-catch* ont été utilisés à cet effet. La détermination de l'infection a été faite par ELISA CSP sur les têtes-thorax. L'IAS est égal au nombre de moustique positif à l'ELISA CSP sur le total traité multiplié par 100.

Le Taux d'inoculation entomologique est égal à l'agressivité multipliée par l'indice d'antigène sporozoïtique

#### **4.8 Analyses et interprétations des résultats.**

Les données ont été saisies et analysées sur les logiciels Excel et STATA version 9.0.

Le test statistique utilisé a été le  $\chi^2$  de Person.



**RESULTS**

## 5. RESULTATS

### 5.1 Composition de la population vectrice dans les sites d'étude.

*Anopheles gambiae s.l.*, était le vecteur rencontré pendant le moi d'Octobre (moi de capture).

Au spray-catch 116 *Anopheles gambiae s.l.* ont été capturés à Kolimana, 47 à Nabougou, 78 à Sèguèla, 55 à Niala, 27 à Bagadadji, 301 à Tia.

#### 5.1.1 Fréquence des espèces d'*An. gambiae s.l.*

**Tableau 2:** Fréquences relatives des espèces d'*An. gambiae s.l.* dans les différentes localités d'étude en Octobre 2007 après capture par spray-catch

Localités	<i>An. arabiensis</i>		<i>An. gambiae s.s.</i>		Total N
	n	%	n	%	
Sèguèla	6	12,5	42	87,5	48
Kolimana	2	2,8	69	97,2	71
Nabougou	2	5,0	38	95,0	40
Niala	16	30,8	36	69,2	52
Bagadadji	11	50,0	11	50,0	22
Tia	25	29,4	60	70,6	85
Total	62	19,5	256	80,5	318

(Chi2 de Pearson = 41,39, ddl= 5, P< 0,001)

Ces résultats montrent une variation significative de la fréquence des espèces d'*An. gambiae s.l.* par site d'étude  $X^2=41,39$  (P<0,001).

*An. gambiae s.s.* était l'espèce la plus fréquente dans les sites d'étude excepté Bagadadji où la fréquence des deux espèces vectrices était similaire (50%).

*An. gambiae s.l.* avait une fréquence plus élevée à Bla avec 383 moustiques capturés au spray-catch, comparativement à Koulikoro avec 241 moustiques capturés.

Cette étude étant la première étude entomologique sur les moustiques dans ces sites, il est important de noter que d'autres espèces de

moustique ont été rencontrées. Comme anophelinae, *An.rifupes* et *An.pharoensis* ont été rencontré, et comme culicinae *Culex sp*, *Aedes sp* et *mansonía sp* ont été rencontré.

### 5.1.2 Fréquence des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s.*

**Tableau 3:** Fréquences relatives des formes moléculaires d'*An. gambiae s.s* et *An. arabiensis* par sites d'étude en Octobre 2007 après capture par spray-catch

Localités	Forme "M"		Forme "S"		Total
	n	%	n	%	N
Sèguèla	41	97,6	1	2,4	42
Kolimana	68	98,6	1	1,4	69
Nabougou	38	100,0	0	0,0	38
Niala	36	100,0	0	0,0	36
Bagadadji	11	100,0	0	0,0	11
Tia	53	88,3	7	11,7	60
Total	247	96,5	9	3,5	256

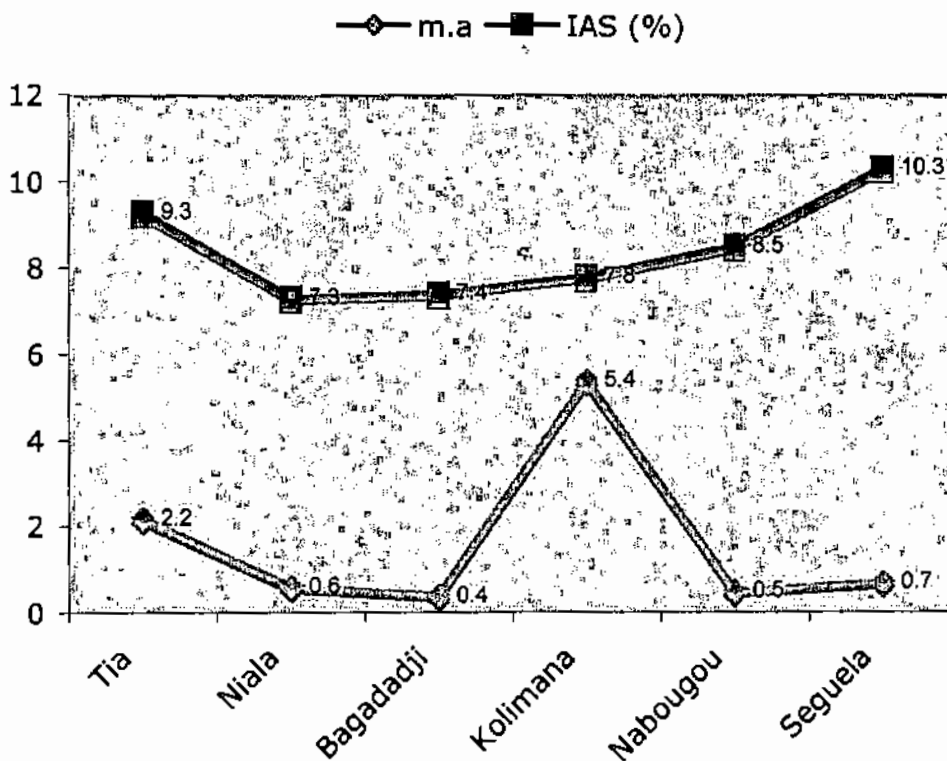
(Chi2 de Pearson = 19,09, ddl= 5, Pr = 0,002)

Dans l'ensemble des villages, la forme moléculaire M était largement dominante comparativement à la forme moléculaire S avec une fréquence relative variant entre 88,3 et 100% des moustiques collectés  $X^2=19,09$  (P=0,002)

**5.2 Etude de la transmission du paludisme dans les différents villages des cercles de Koulikoro et Bla.**

Les moustiques issus des captures par spray-catch (mois d'Octobre) ont été utilisés à cet effet (tête-thorax). Les études antérieures en zone de savane soudanienne au Mali ont montré que le pic de la transmission du paludisme se situe au mois d'Octobre, ce qui justifie le choix de ce mois pour évaluer le niveau de la transmission.

**5.2.1 Détermination de l'agressivité (m.a) et de l'indice d'antigène sporozoïtique (IAS)**



m.a= nombre de piqûre par homme par nuit.

**Figure 4 :** moyenne d'agressivité et indice d'antigène sporozoïtique par localité d'étude en Octobre 2007.

Le nombre de piqûres par homme par nuit a varié d'un village à l'autre. Ainsi ce nombre était plus élevé à Kolimana comparativement aux autres



villages avec 5,4 piqûres par homme et par nuit. Le plus faible nombre de piqûre a été observé à Bagadadji avec 0,4 piqûre par homme et par nuit.

Dans l'ensemble des villages l'indice d'antigène sporozoïtique a varié de 7,3% à Niala, à 10,3% à Sèguèla. Il n'y a pas eu de différence significatif entre le nombre de moustique positif à l'ELISA CSP dans les différents villages avec ( $P=0,192$ ).

### 5.2.2 Détermination du taux d'inoculation entomologique (TIE)

**Tableau 4 :** Moyenne d'agressivité, Indice d'Antigène Sporozoïtique et Taux d'inoculation entomologique par localité d'étude en Octobre 2007

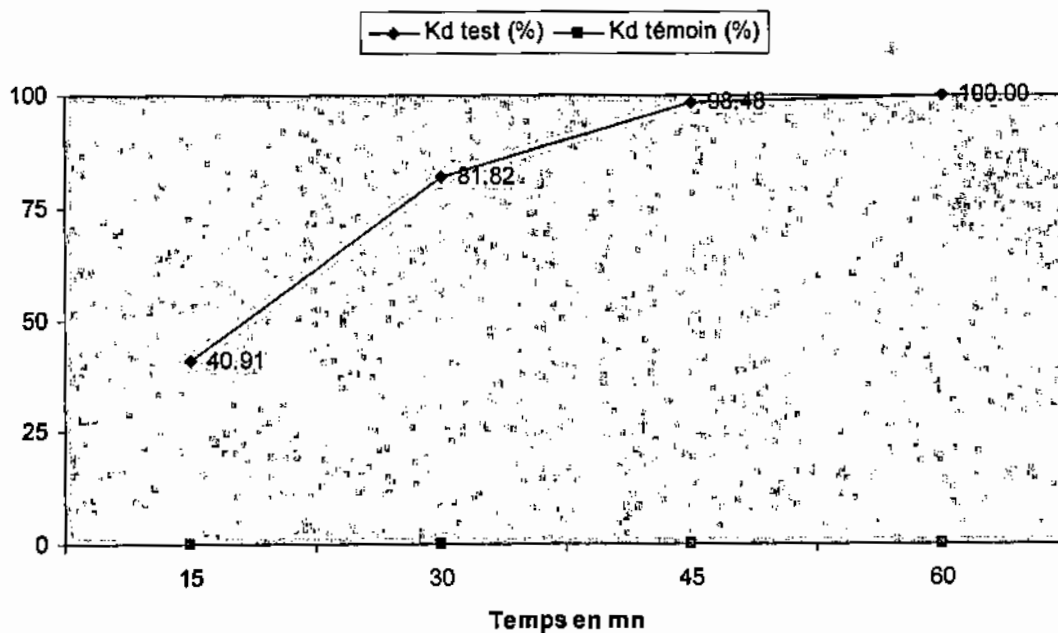
Localités	m.a	IAS (%)	TIE (mois)
Tia	2,2	9,3	6,1
Niala	0,6	7,3	1,3
Bagadadji	0,4	7,4	0,79
Kolimana	5,4	7,8	12,6
Nabougou	0,5	8,5	1,3
Sèguèla	0,7	1,3	2,2

L'agressivité la plus élevée a été observée à Kolimana, ce qui explique le taux d'inoculation entomologique élevé dans ce village comparativement aux autres. L'indice d'antigène sporozoïtique n'a pas véritablement varié d'un village à l'autre.

### 5.3 Test de susceptibilité d'*An gambiae s.l* à la lambdacyhalothrine et au bendiocarbe

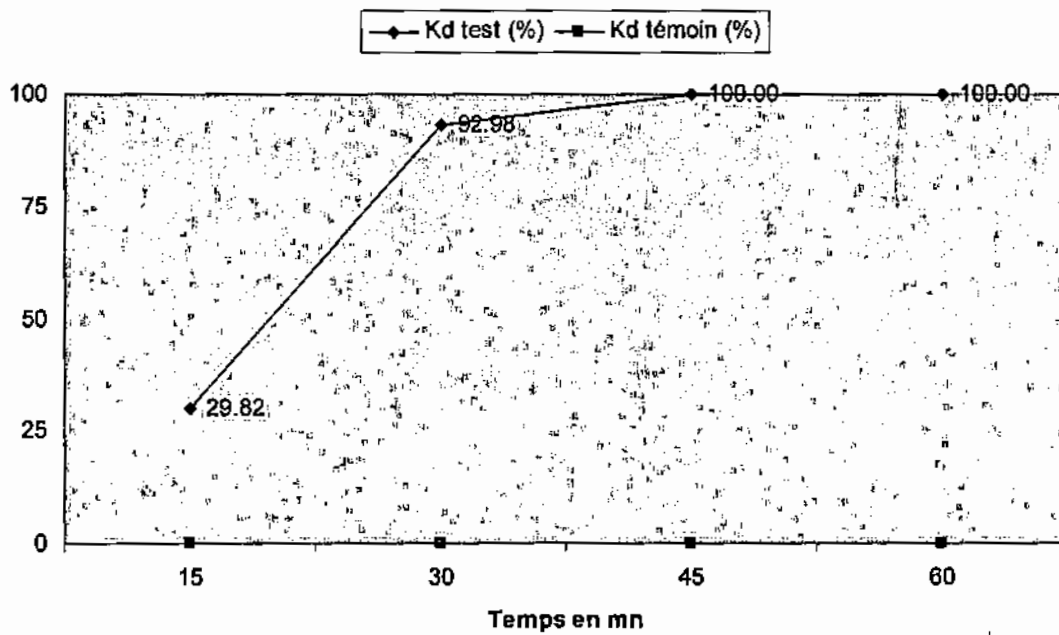
Le test de susceptibilité n'a pas pu être fait dans l'ensemble des villages d'étude à cause de la faible densité anophelienne durant la période d'étude. Les moustiques utilisés pour les tests sont issus de la première génération de femelles sauvages capturées par aspirateur à bouche (120 moustiques).

#### 5.3.1 Temps de Knock down (kdt) dans les villages des cercles de Bla et Koulikoro.



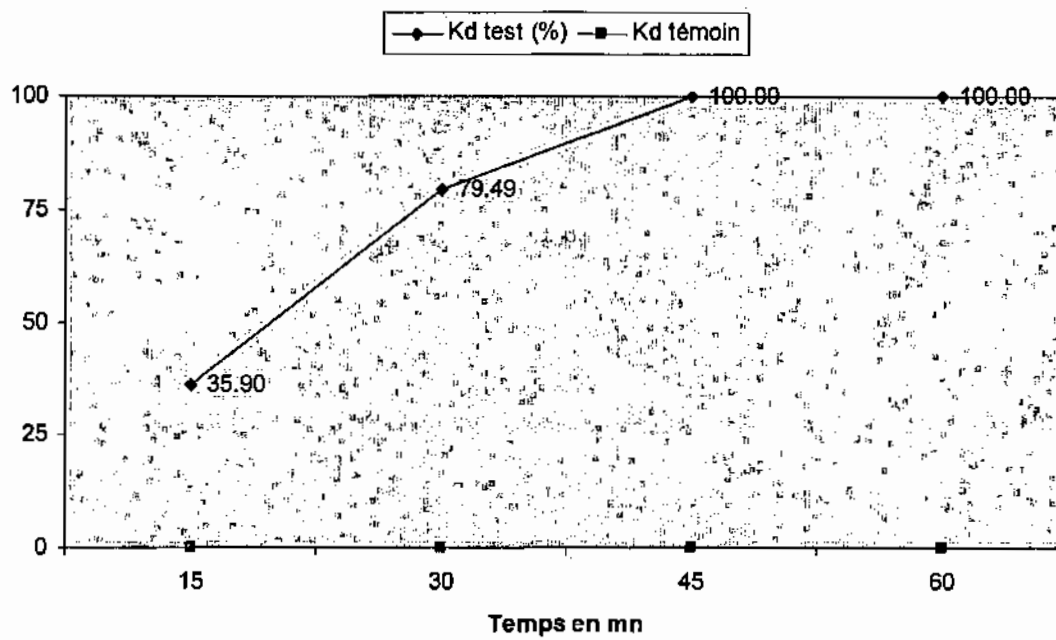
**Figure 5:** Temps de knock down des moustiques à Niala (Bla) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>).

Le temps pendant lequel 50% des moustiques étaient *Knock down* (kdt50) à Niala a été obtenu avant 30mn, et le temps pendant lequel 95% des moustiques étaient *Knock down* (kdt95) a été obtenu avant 45mn (N= 80)



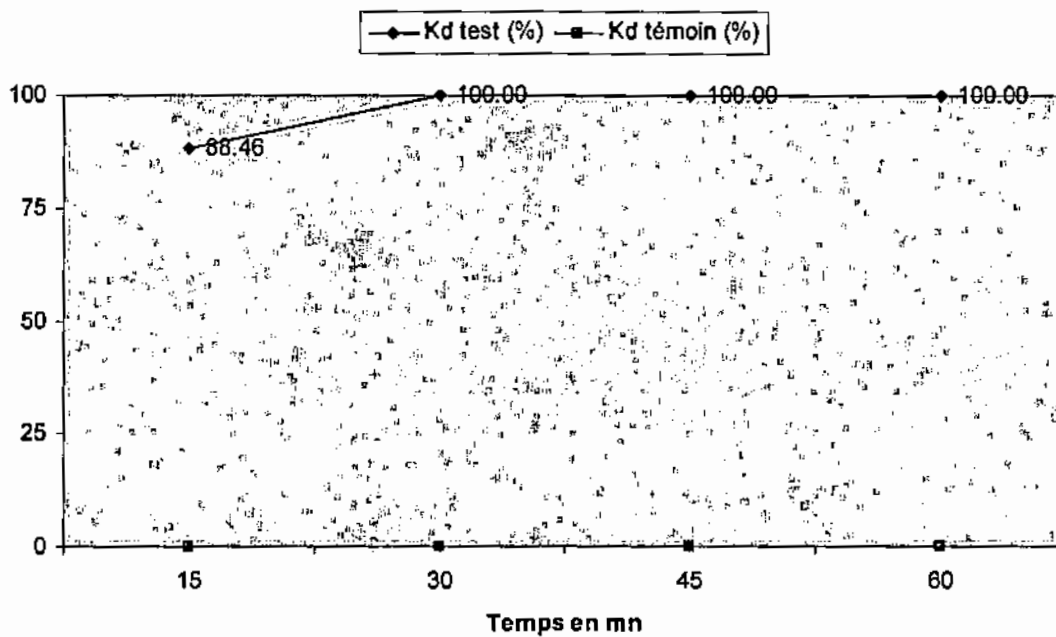
**Figure 6:** Temps de knock down des moustiques à Bagadadji (Bla) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>).

Le temps pendant lequel 50% des moustiques étaient *Knock down* (kdt50) à Bagadadji a été obtenu avant 30mn, et le temps pendant lequel 95% des moustiques étaient *Knock down* (kdt95) a été obtenu avant 45mn (N= 80)



**Figure 7:** Temps de knock down des moustiques à Tia (Bla) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>).

Le temps pendant lequel 50% des moustiques étaient *Knock down* (kdt50) à Tia a été obtenu avant 30mn, et le temps pendant lequel 95% des moustiques étaient *Knock down* (kdt95) a été obtenu avant 45mn (N= 100)



**Figure 8:** Temps de knock down des moustiques à Kolimana (Koulikoro) après 1 heure d'exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30 mg/m<sup>2</sup>).

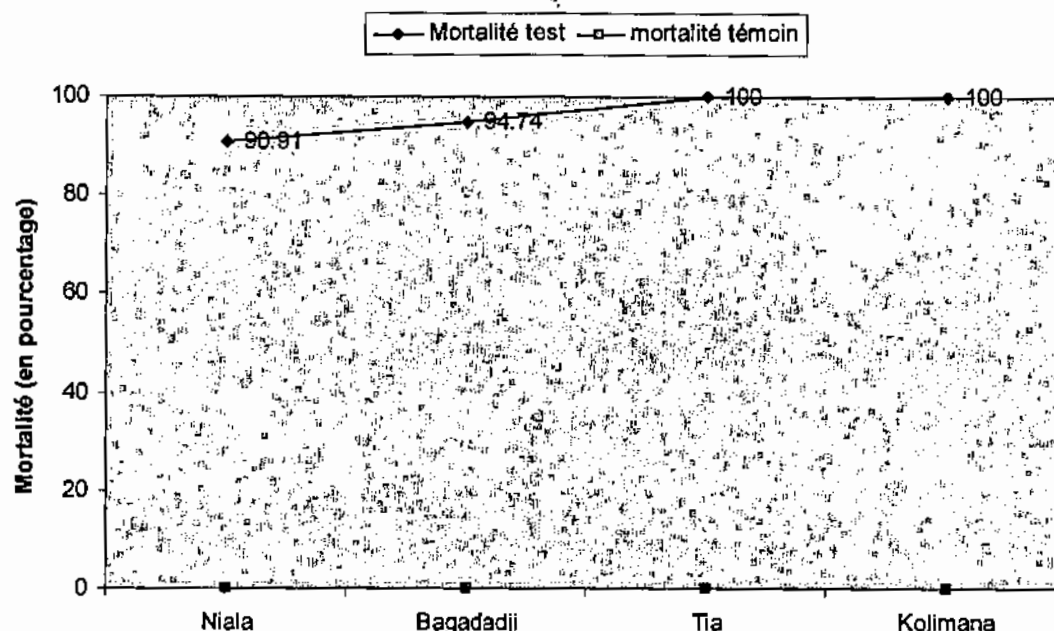
Le temps pendant lequel 50% des moustiques étaient *Knock down* (kdt50) à Kolimana a été obtenu à 15mn, et le temps pendant lequel 95% des moustiques étaient *Knock down* (kdt95) a été obtenu à 30mn (N= 120)

**Tableau 5:** récapitulatif des temps de knock down des moustiques dans les différents villages

Localités	kdt50 (en minute)	kdt95 (en minute)
Niala (Bla)	30	45
Bagadadji (Bla)	30	45
Tia (Bla)	30	45
Kolimana (Koulikoro)	15	30

Dans les villages de Niala, Bagadadji et Tia les kdt50 et 95 sont obtenus respectivement à 30 et 45mn, alors qu'à Kolimana ils sont obtenus à 15 et 30mn.

**5.3.1.1 Mortalité d'*An. gambiae s.l.* à la lambdacyhalothrine dans les villages des cercles de Bla et Koulikoro.**



**Figure 9:** Taux de mortalité d'*An. gambiae s.l.* 24 heures après exposition à la lambdacyhalothrine (dose = 30mg/m<sup>2</sup>) par localité.

La mortalité à 24 heures par village a variée de 90,91% à Niala (N=80) à 100% à Tia (N= 100) et Kolimana (N= 120), avec la lambdacyhalothrine (30mg/m<sup>2</sup>).

Selon les recommandations de L'OMS en 1998, les moustiques sont sensibles à la lambdacyhalothrine à 30mg/m<sup>2</sup> dans les villages de Tia et Kolimana. Cependant pour les villages de Niala et Bagadadji la sensibilité est réduite, une surveillance sera nécessaire pour confirmer la sensibilité

### 5.3.2 Détermination de la fréquence du gène *kdr* chez *An. gambiae* s.l

**Tableau 6:** Fréquences relatives des génotypes par sites d'étude en Octobre 2007

Localités	"RR"		"RS"		"SS"		Total N
	n	%	n	%	n	%	
Kolimana	0	0,0	7	14,0	43	86,0	50
Nabougou	1	2,1	3	6,3	44	91,6	48
Tia	3	3,5	17	1,5	67	77,0	87

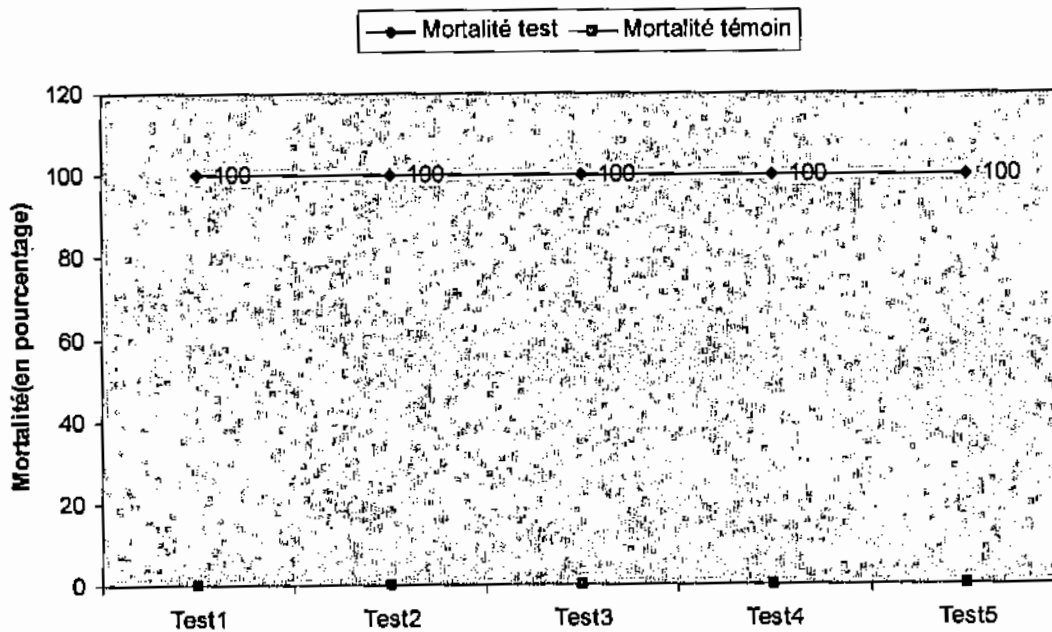
(Chi2 de Pearson = 6,37, ddl= 4, Pr = 0,173)

Il n'y a pas de différence significative entre la fréquence des différents génotypes du gène *kdr* d'un village à l'autre  $X^2= 6,37$  (P= 0,173). Cependant l'allèle susceptible prédomine largement sur l'allèle résistant avec une fréquence relative allant de 77% à Tia à 91,6% à Nabougou.

#### 5.4 Susceptibilité d'*An. gambiae s.l* au bendiocarbe

Les tests insecticides avec la bendiocarbe ont été faits dans 2 villages compte tenu de la faible densité anophelienne pendant la période d'étude. En effet seulement 120 moustiques, femelles sauvages ont été capturés par aspirateurs à bouche dans les villages d'étude.

##### 5.4.1 Susceptibilité d'*An. gambiae s.l* au bendiocarbe à Sèguèla cercle de Koulikoro.

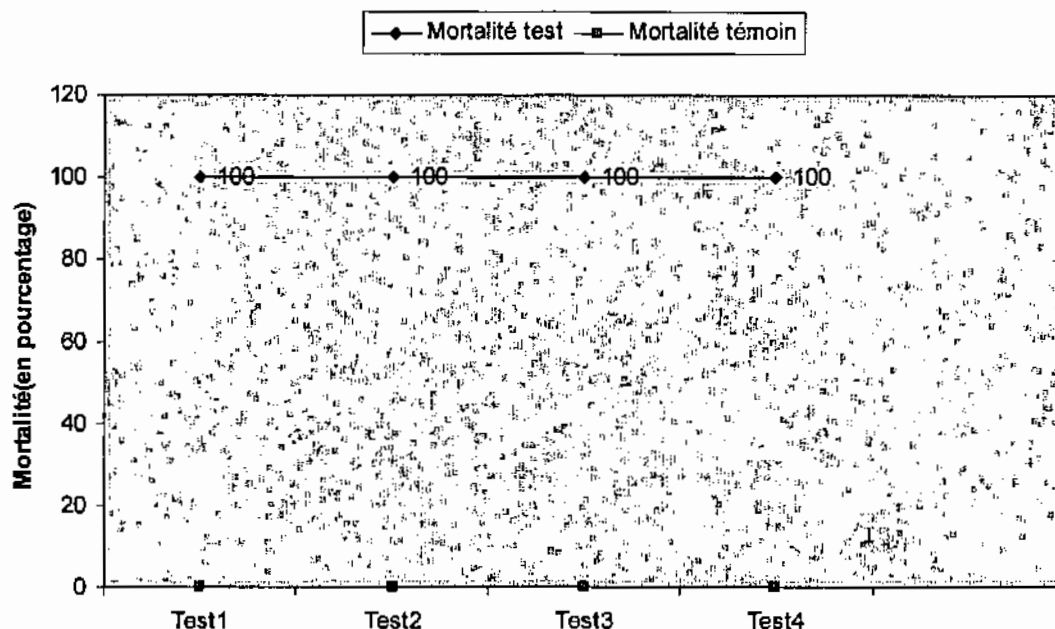


**Figure 10:** Taux de mortalité des moustiques à Sèguèla 24 heures après exposition au bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup>.

Dans le village de Sèguèla 24 heures après le test de sensibilité avec le bendiocarbe 100% des moustiques sont morts (N=125). Les moustiques sont susceptibles dans ce village au bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup>



### 5.4.2 Susceptibilité d'*An. gambiae s.l* au bendiocarbe à Tia cercle de Bla



**Figure11** : Taux de mortalité des moustiques à Tia 24 heures après exposition au bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup>.

Dans le village de Tia 24 heures après le test de sensibilité avec le bendiocarbe 100% des moustiques sont morts (N= 100). Les moustiques sont également susceptibles dans ce village au bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup>



**COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS**

## 6. Commentaires et discussions

La présente étude, est une évaluation de la situation de la susceptibilité du complexe *Anopheles gambiae* s.l. à la lambda-cyhalothrine et au bendiocarbe, et de certains paramètres entomologiques dans les cercles de Koulikoro et Bla en prélude à la pulvérisation intra domiciliaire (PID). L'étude s'est étendue d'Octobre 2007 à Janvier 2008.

Les cercles de Koulikoro et Bla ont été choisis sur la base de la prévalence élevée du paludisme, la saison pluvieuse qui n'excède pas 4 mois. Les villages ont été choisis sur la base de l'accessibilité sur la carte touristique du Mali.

### 6.1 Composition vectorielle.

L'espèce vectrice rencontrée a été *An. gambiae* s.l dans l'ensemble des villages. Sa fréquence était plus élevée à Bla qu'à Koulikoro.

Elle se compose d'*An. gambiae* s.s et d'*An. arabiensis*, ces espèces sont trouvées en sympatrie (Fontenille et al., 2003). La présente étude montre que la fréquence d'*An. gambiae* s.s prédomine sur celle d'*An. arabiensis* au mois d'Octobre dans les différents sites d'étude. Sangaré en 2000 a trouvé des résultats similaires à Donéguébougou (savane soudanienne), et a observé que la fréquence d'*An. arabiensis* augmente à partir de la fin de la saison pluvieuse. Cependant les échantillons dans la présente étude avaient une taille relativement faibles.

La fréquence de la forme moléculaire M était supérieure à celle de la forme moléculaire S dans l'ensemble des villages.

Toute fois d'autres auteurs (Traoré en 1989, Sangaré en 2000) ont noté des fluctuations importantes des fréquences de ces espèces en fonction des différentes saisons. La présente étude reflète les fréquences des espèces pendant le seul mois d'Octobre.

En plus du complexe *Anopheles gambiae s.l.* dans la faune anophélienne il y avait *An. rifupes* et *An. pharoensis*. Dans la faune culicidienne il y avait *Culex sp*, *Aedes sp* et *Mansonia sp.*).

## **6.2 Susceptibilité d'*An. gambiae s.l* aux insecticides**

### **6.2.1 Susceptibilité à la lambda-cyhalothrine à la dose de 30mg/m<sup>2</sup>**

Les tests insecticides avec la lambda-cyhalothrine (dosée à 30mg/m<sup>2</sup>) ont été faits avec les bouteilles de 250ml selon le CDC (W. Brogdon et al., 1998). Les tests n'ont pas pu être faits dans 2 villages de Koulikoro (Nabougou et Sèguèla) à cause de la faible densité des moustiques durant la période d'étude. Dans les villages de Bla : Tia, Niala et Bagadadji le kdt50 a été obtenu avant 30mn et le kdt95 avant 45mn. A Koulikoro, dans le village de Kolimana le kdt50 a été obtenu à 15mn et le kdt95 avant 30mn. La mortalité à 24heures à Niala était de 90,91%, 94,74% à Bagadadji, 100% à Tia et à Kolimana. Au total 260 moustiques ont été testés à Bla et 120 à Koulikoro. Dans les villages de Tia et Kolimana la mortalité est de 100%, la population d'*An. gambiae s.l* est donc susceptible. Dans les villages de Niala et Bagadadji la mortalité est respectivement de 91% et 95%. Selon les normes de l'OMS, il y aurait une possibilité de résistance à confirmer. Cependant la taille faible de l'échantillon pourrait influencer sur les résultats. La susceptibilité pourrait être mieux évaluée avec un échantillon de grande taille. Ces résultats suggèrent que la lambda-cyhalothrine peut être utilisée comme insecticide pour la pulvérisation intradomiciliaire, tout en surveillant une résistance éventuelle.

### **6.2.2 Susceptibilité au bendiocarbe**

Les tests avec le bendiocarbe ont été faits avec des cages confectionnées avec du papier Wattman, imbibé dans la solution d'insecticide dosée à

200mg. Ils ont été faits sur la première génération des moustiques provenant des villages de Sèguèla (Koulikoro), et de Tia (Bla). Le test a été fait avec 25 moustiques par cage, à Sèguèla au total 125 moustiques ont été testés, et 100 moustiques à Tia. La mortalité à 24heures dans les 2 villages était de 100%. Les moustiques sont susceptibles au bendiocarbe à 200mg dans les 2 villages. Ces résultats montrent que le bendiocarbe peut aussi être utilisé dans la pulvérisationintradomiciliaire, en alternance avec la lambdacyhalothrine pour prévenir la résistance des vecteurs.

### **6.2.3 Distribution du gène *kdr***

Les résultats de la présente étude ne soutiennent aucune différence significative de la distribution du gène *kdr* entre les sites d'étude. Toute fois dans l'ensemble de ces sites l'allèle susceptible prédomine largement sur l'allèle résistant. Dans les études antérieures Fanello et al., en 2003 ont noté la présence du gène *kdr* chez la forme chromosomique Savane à Banambani. Ils ont aussi noté que le *kdr* était présent à Banambani en 1987, et sa fréquence a augmentée de 2,8% en 1987 à 62,1% en 2000. Tripet et al., en 2007, ont trouvé des résultats similaires, ils ont aussi noté l'augmentation progressive de la fréquence du gène *kdr*. La fréquence du gène *kdr* dans le village de Pimperena (cercle de Sikasso), en 2002 était de 80%. Elle s'explique par le fait d'une grande utilisation d'insecticide dans la culture du coton.

Le faible pourcentage de *kdr* observé au cours de cette étude comparativement aux études précédentes au Mali pourra s'expliquer par une pression de sélection plus faible dans les sites d'études. Dans la présente étude la forme moléculaire M a prédominé dans les 2 cercles, et le gène *kdr* n'a pas encore été détecté dans la forme moléculaire M au Mali (Tripet et al., 2007). Une étude étalée sur toutes les saisons, serait

importante pour corrélér la fréquence du gène kdr avec les fluctuations des formes moléculaires.

### **6.3 Etudes entomologiques de la transmission**

Les paramètres entomologiques ont été mesurés avec les moustiques issus des captures par *spray-catch*, du mois d'Octobre. Ce mois a été choisi sur la base que des études antérieures en zone de savane soudanienne au Mali, y ont trouvée le pic de la transmission du paludisme. Ils ne pourront pas refléter l'intensité de la transmission du paludisme dans les sites d'étude sur l'ensemble des différentes saisons.

L'agressivité a été calculée avec les femelles issues de la faune résiduelle matinale. Elle a varié de façon significative d'un village à l'autre. Traoré en 1989 et Sangaré en 2000 ont trouvé des chiffres supérieurs respectivement à Banambani et Donéguébougou. Ceci peut s'expliquer par le fait que ces auteurs ont utilisé les captures de nuits pour déterminer l'agressivité.

Il n'y avait pas de différence significative entre l'indice d'antigène sporozoïtique (IAS) dans les différents villages. Les mêmes auteurs ci-dessus cités ont également trouvé des chiffres supérieurs que dans la présente étude. Le TIE a varié de 12,6 piqûres infectantes par homme par mois à Kolimana à 0,79 piqûre infectante par homme par mois à Nabougou.

Une Anophèle collectée à Tia (Bla) était positive à l'ELISA CSP pour *Plasmodium vivax* qui n'avait jusque là été rencontré qu'au Nord du Mali (Koita, 1988). Pour la première fois donc, cette étude vient de révéler la présence (même à une fréquence relativement basse) de *P. vivax* au sud du Mali. Une confirmation par des études parasitologiques et biologiques sera nécessaire.

**CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

## 7. Conclusion et Recommandations.

La présente étude avait pour but de faire le point sur la susceptibilité d'*An. gambiae s.l.*, à la lambda-cyhalothrine et au bendiocarbe dans 3 villages de Bla et Koulikoro, et le niveau de transmission, en prélude à la pulvérisation intra domiciliaire en 2008.

Il ressort de cette étude qu'*An. gambiae s.l.* est susceptible aux insecticides testés. Toutefois le gène *kdr* est présent dans les cercles de Bla et Koulikoro à faible fréquence. Eu égard à l'augmentation de la fréquence du gène *kdr* avec les pressions de sélection, et le fait que la présente étude pourra ne pas refléter la situation de la résistance pendant toute l'année, une surveillance s'impose durant la pulvérisation-intradomiciliaire (PID). Le taux d'inoculation entomologique, servira à évaluer l'impact de la pulvérisation-intradomiciliaire sur le niveau de transmission.

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

- **Aux autorités du Mali :**
- La mise en place effective et rapide de la pulvérisation-intradomiciliaire.
- De remédier aux lenteurs administratives pour faciliter les activités de recherche.
- **Aux chercheurs :**
- Une surveillance rigoureuse de l'évolution de la fréquence du gène *kdr*.
- Des études étalées sur toute l'année, qui vont faire une corrélation entre le gène *kdr* et les formes moléculaires d'*An. gambiae s.l.*, avec le niveau de transmission.
- **Aux populations des sites d'étude :**
- La coopération pour les activités de recherche.





**BIBLIOGRAPHIE**

## 8. Bibliographies

- 1 Akogbéto, M., Djouaka, R., Noukpo, H., 2005. Use of agricultural insecticides in Benin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 98, 400-405.
- 2 Akogbéto, M., Yakoubou, S., 1999. Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyrétrinoïdes utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. *Entomologie médicale. Bull. Soc. Pathol. Exot.* 92, 123-130.
- 3 Anonyme, 28-30 Septembre 1998 (OMS/CDS/CPC/MAL/98.12) report of the WHO informal consultation  
Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces, WHO, Geneva, Switzerland.
- 4 Anonyme, 2005 comités OMS d'experts du paludisme, Vingtième rapport.
- 5 Burkot T. R., Zavala F., Gwadz R.W., Collins F. H., Nussenzweig R. S., Roberts D. R., . Identification of malaria infected mosquitoes by a two-sites *enzyme-linked immunosorbent assay*. *Am. Jour. Trop. Med. Et Hyg.* 1984, 33 : 227-231.
- 6 Choi HW, Breman JG, Teutsh SM, Liu S, Hightower AW, Sexton JD, 1995. The effectiveness of insecticide-impregnated bed nets in reducing cases of malaria infection: a meta analysis of published results. *Am J Trop Med Hyg* 52: 377-382.

- 7 De Meillon, B. (1934). Observations on *Anopheles funestus* and *Anopheles gambiae* in the Transval. *Publications of South African Institute of Medical Research* 6, 195.
  
- 8 Diabaté, A., Baldet, T., Chandre, F., Akogbéto, M., Guiguemde, R.T., Darriet, F., Brengues, C., Guillet, P., Hemingway, J., Graham, J.S., Hougard, J.M., 2002b. The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae s.l.* in Burkina Faso.
  
- 9 Diabaté, A., Baldet, T., Chanre, F., Guiguemde, R.T., Brengues, C., Guillet, P., Hemingway, J., Hougard, J.M., 2002a. First report of the *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* M form from Burkina Faso, West Africa. *Parasitologia* 44, 157-158.
  
- 10 Dolo A., F. Camara, B. Poudiougou, A. Touré, B. Kouriba, M. Bagayogo, D. Sangaré, M. Diallo, A. Bosman, D. Modiano, Y.T. Touré et O. Doumbo. Epidémiologie du paludisme dans un village de savane soudanienne du Mali (Bancoumana). Etude entomoparasitologique et clinique *Bull. Soc. Path. Ex.*, 2003, 96, 308-312.
  
- 11 Doumbo O. (1992). Epidémiologie du paludisme au Mali. Etude de la chloroquino-résistance. Essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation des rideaux imprégnés de permethrine associée au traitement systématique des accès fébriles. *Thèse de doctorat Science biologiques (Parasitologie Pathologie, Ecologie), Montpellier.*

- 12 Elissa, N., Mouchet, J., Rivière, F., Meunier, J.K., 1993. Resistance of *Anopheles gambiae* s.s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann. Soc. Belge. Méd. Trop.* 73, 291-294.
- 13 Fanello C, Petrarca V, della Torre A, Santolamazza F, Dolo G, Coulibaly M, Allouche A, Curtis CF, Touré YT, Coluzzi M, 2003. The pyrethroid knock-down resistance gene in the *Anopheles gambiae* complex in Mali and further indication of incipient speciation within *An. Gambiae* s.s. *insect Mol Biol* 12: 241-245.
- 14 anello C, Santolamazza F, Della Torre A, 2002. Simultaneous identification of species and molecular forms of the *Anopheles gambiae* complex by PCR-RFLP. *Med Vet Entomol* 16: 461-464.
- 15 Frederic Tripet, Jennifer Wright, and Greg Lanzaro, 2006. A new high-performance PCR diagnostic for the detection of pyrethroid knockdown resistance *kdr* in *Anopheles gambiae*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74(4): 658-662.
- 16 Frederic Tripet, Jennifer Wright, Anthon Cornel, Abdramane Fofana, Rory Mcabee, Claudio Menes , Lisa Reimer, Michel Slotman, Tara Thiemann, Guimogo Dolo, Sekou Traoré, and Gregory Lanzaro, 2007. Longitudinal survey of knockdown resistance to pyrethroid (*kdr*) in Mali, West Africa, and evidence of ITS emergence in the Bamako form of *Anopheles gambiae* s.s. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76(1): 81-87.
- 17 Guimogo Dolo, Oliver J.T. Briët, Adama Dao, Sékou F. Traoré, Madama Bouaré, Nafomon Sogoba, Oumou Niaré, Magaran Bagayogo, Djibril Sangaré, Thomas Teuscher, Yeya T. Touré,

2004. Malaria transmission in relation to rice cultivation in the irrigated Sahel of Mali. *Acta Tropica* 89: 147-159.

**18** Holstein M. (1949). Guide pratique de l'anophelisme en Afrique de l'Ouest française (A.O.F). *Service Général d'hygiène Mobile et de Prophylaxie, Dakar, pp.54.*

**19** Janet Hemingway and Hilary Ranson, 2000. Insecticide resistance in Insect vector of human disease. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 371-379.

**20** Jean Mouchet, Pierre Carnevale, Marc Coosemans, Jean Julvez, Sylvie Manguin, Dominique Richard-Lenoble, Jacques Sircoulon. *Biodiversité du paludisme dans le monde, édition John Libbey Eurotext 2004, pages 265-384.*

**21** Josiane Etang, Etienne Fondjo, Fabrice Chandre, Isabelle Morlais, Cecile Brengues, Philippe Nwane, Mouhamadou Chouaibou, Hamadou Ndjemai, and Frédéric Simard, 2006. Short report: first report of knockdown mutations in the malaria vector *Anopheles gambiae* from Cameroon. *Am. J. Med. Hyg.* 74(5): 795-797.

**22** Josiane Etang, Fabrice Chandre, Pierre Guillet, and Lucien Manga, 2004. Reduced bio-efficacy of permethrin EC impregnated bednets, against an *Anopheles gambiae* strain with oxidase-based pyrethroid tolerance. *Malar J.* 3:46.

**23** Koïta O. (1988). Contribution à l'étude du paludisme le long du tronçon de la route trans-saharienne du Mali. *Thèse, de pharmacie, école nationale de médecine, Bamako.*

- 24** M. Zaim, A. Aitio and N. Nakashima, 2000. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Medical and Ceterinary Entomology* 14, 1-5.
- 25** Marie-Claire Henry, Serge-Brice Assi, Christophe Rogier, Joël Dossou-Yovo, Fabrice Chandre, Pierre Guillet, and Pierre Carnevale, 2005. Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Côte d'Ivoire. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73 (5): 859-864.
- 26** Martinez-Torres, D., Chandre, F., Williamson, M.S., Darriet, F., Berge, J.B., Devonshire, A.L., Guillet, P., Pasteur, N., Pauron, D., 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol. Biol.* 7, 179-184.
- 27** Nannan Liu, Qiang Xu, Fang Zhu and Lee Zhang, 2006. Pyrethroid resistance in mosquitoes. *Insect science* 13: 159-166.
- 28** PNLP- Mali, 2004.  
Rapport de la collecte des données de base pour le suivi et l'évaluation des interventions de lutte contre le paludisme
- 29** Ranson, H., Jensen, B., Vulule, J.M., Wang, X., Hemingway, J., Collins, F.H., 2000a. Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Mol. Biol.* 9, 491-497.

**30** Sangaré D. (2000). Dynamique des populations d'*An. gambiae s.l.*, d'*An. funestus* et de *Plasmodium falciparum* dans le système de transmission par relais du paludisme à Donéguébougou (Arrondissement Central de Kati). *Thèse, de 3<sup>ème</sup> cycle, ISFRA, Bamako.*

**31** Sites internet :

[www.malaria.tun](http://www.malaria.tun);

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:AnophelesGambiaemosquito.jpg>;

**32** Touré Y.T (1979) Bio-écologie des anophèles (Diptera : culicidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali (village de Banambani). Incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft *thèse de 3<sup>ème</sup> cycle ; Centre Pédagogique Supérieur.*

**33** Traoré S.F (1989) Etude du comportement et de la contribution à la transmission du paludisme des membres du complexe *An. gambiae* à Banambani (cercle de Kati) *thèse, de 3<sup>ème</sup> cycle, ISFRA, Bamako.*

**34** V. Corbel, R. N'Guessan, C. Brengues, F. Chandre, L. Djogbenou, T. Martin, M. Akogbéto, J.M. Hougard, M. Rowland, 2007. *Acta Tropica* 101: 207-216.

**35** Vulule, J.M., Beach, R.F., Atieli, F.K., McAllister, J.C., Brogdon, W.G., Roberts, J.M., Mwangi, R.W., Hawley, W.A., 1999. Elevated oxidase and esterase levels associated with permethrin tolerance in *Anopheles gambiae* from Kenyan villages using permethrin-impregnated nets. *Med. Vet. Entomol.* 13, 239-244.

**36** William G. Brogdon and Janet C. McAllister, 1998. Insecticide resistance and vector control. *Vol. 4, No. 4*, October-December 1998.



**FANNEXES**

**Annexes 1**

**Fiche de bio-assai**

**Date:**

**Location:**

**Mosquito:**

**Chemical:**

	n =	B down	B down	B down	B down	B down
<b>Control</b>	<b>Min Times</b>					
	<b>0</b>					
	<b>15</b>					
	<b>30</b>					
	<b>45</b>					
	<b>60</b>					
	<b>75</b>					
	<b>90</b>					
	<b>105</b>					
	<b>120</b>					
	<b>135</b>					
	<b>150</b>					
	<b>165</b>					
	<b>180</b>					
	<b>24 h</b>					

## **Annexes 2**

### **Test de sensibilité du CDC**

#### **Procédure :**

- Les bouteilles de 250 ml ont été labelées par ordre croissant avec une bouteille control, chaque bouteille a reçu 1000  $\mu$ l d'acétone. L'acétone sert de véhicule pour que l'insecticide recouvre toute la surface de la bouteille.
- Les bouteilles tests ont ensuite reçu une dose de 10 $\mu$ g d'une part et 30 $\mu$ g d'autre part de lambdacyhalothrine, avec une pipette différente de celle utilisée pour l'acétone. La bouteille control n'a reçu que de l'acétone.
- Les bouteilles ont ensuite été remuées dans tous les sens pour que l'insecticide recouvre toute la surface de la bouteille. Elles ont ensuite été roulées sur une surface plane jusqu'à l'évaporation total de la solution contenue dans la bouteille (insecticide + acétone ) Après on les a ouvert, et laissé sécher pendant 2 heures de temps avant le test.
- Les moustiques ont été mis par lot de 10, sans tenir compte de l'état de réplétion, ils ont ensuite été mis dans les bouteilles tests et la bouteille de control a l'aide d'aspirateur à bouche.
- Le test a duré 1 heure de temps, chaque 15 minute les moustiques Knock down étaient dénombrés et reportés sur la fiche de collecte des données.
- A la fin de l'heure d'exposition, nous avons transfère les moustiques dans des pots de capture non souillés par l'insecticide, sur chaque pot, a été déposé du coton imbibé de jus sucré a 10%.
- Le décompte de la mortalité a été effectué après 24 heures. Les résultats ont été portés sur nos fiches de collecte de données.
- Après 24 heures, les moustiques morts ont été conservés à part sur du silica gel, les vivants à part de même que les moustiques du control.



## **ANNEXES 4**

### **Extraction de l'ADN**

Chaque moustique a été placé dans un tube eppendorf type 1,5ml contenant 25ul de la solution tampon (flygrinding buffer). A l'aide d'un pilon stérilisé, le moustique a été écrasé et ensuite rincé avec autre 25ul de la solution tampon, puis le schéma suivant a été suivi :

- Les tubes ont été placés au bain-marie à 65 °C pendant 30 mn pour inhiber l'acidité des enzymes pouvant détruire l'ADN.
- Nous y avons ensuite ajouté 7ul d'acétate de potassium (pH 7.4). Les tubes ont été incubés à -20 °C pendant 30 mn, cette étape permet de précipiter les protéines.
- Après le mélange a été centrifugé à 14000 tours par minute pendant 15 mn.
- Le surnageant a été récupéré dans de nouveaux tubes eppendorf contenant 100ul d'éthanol absolu, l'ensemble a été incubé à la température ambiante pendant 5 mn. L'ajout d'alcool a pour but de précipiter l'ADN au fond du tube.
- Pour obtenir le culot d'ADN, nous avons centrifugé la suspension à 14000 tours par minute pendant 15 mn puis ensuite verser l'éthanol absolu et ajouter l'éthanol à 70% pour laver l'ADN.
- Les tubes ont été de nouveau centrifugés à 14000 tours par minute 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 25ul d'eau stérile et gardé à -20 °C jusqu'à utilisation.

## ANNEXES 5

***kdr* detection by PCR elongation with fluorescence.** A set of two forward primers and one reverse primer were designed using the software Oligo version 6. The forward primers were designed bearing in mind that they had to have high priming efficiency but nevertheless show high annealing specificity to the *kdr* susceptible and resistant alleles. We opted for primers with similar sequences except for the *kdr* substitution site located at their 3' end (Figure 1 and Table 1). A single reverse primer was designed just outside of intron 2 and was selected on the basis of its high priming efficiency and compatibility with the forward primers (Figure 1 and Table 1). The optimized PCR reaction mix for detecting the Leu-Phe substitution included 0.25  $\mu$ L of AGSWA primer labeled with green fluorescence (5' Hex), 0.12  $\mu$ L of AGRWA primer labeled with blue fluorescence (5' Fam), 0.25  $\mu$ L of the AGREV primer, 0.45  $\mu$ L of dNTPs (10 mM), and 0.125  $\mu$ L of Taq (Eppendorf, Hamburg, Germany) and 1  $\mu$ L of DNA template in a 25  $\mu$ L reaction with 10X buffer, 5X PCR enhancer (Eppendorf, Hamburg, Germany), and 2.5  $\mu$ L magnesium chloride (25 mM). PCR amplifications were done on MJ Research PTC-200 thermal cycler (MJ Research, Watertown, MA) and included an initial 2 minutes at 95°C, 1 minute at 95°C, 30 seconds at 63°C, 30 seconds at 72°C for 25 cycles and a final extension step at 72°C for 5 minutes. For the Leu-Ser substitution conditions only 0.2  $\mu$ L of AGSEA primer labeled with green fluorescence (5' Hex) was used. PCR products were diluted 40 times in H<sub>2</sub>O before being mixed with Genescan 400HD size standard (Applied Biosystems) and run on an ABI 3100 capillary sequencer (Applied

Biosystems). The gels were analyzed using the ABI PRISM Genescan Analysis Software (Applied Biosystems).

Sequence of the primers used for detecting *kdr* resistance in West and East Africa

Forward primers

AGSWA

(Susceptible  
West Africa)

5'\_ GGCCACTGTAGTGATAGGAAATTTA 3'\_

AGRWA

(Resistant  
West Africa)

5'\_ GGCCACTGTAGTGATAGGAAATTTT 3'\_

AGSEA

(Susceptible  
East Africa)

5'\_ TGGCCACTGTAGTGATAGGAAATTT 3'\_

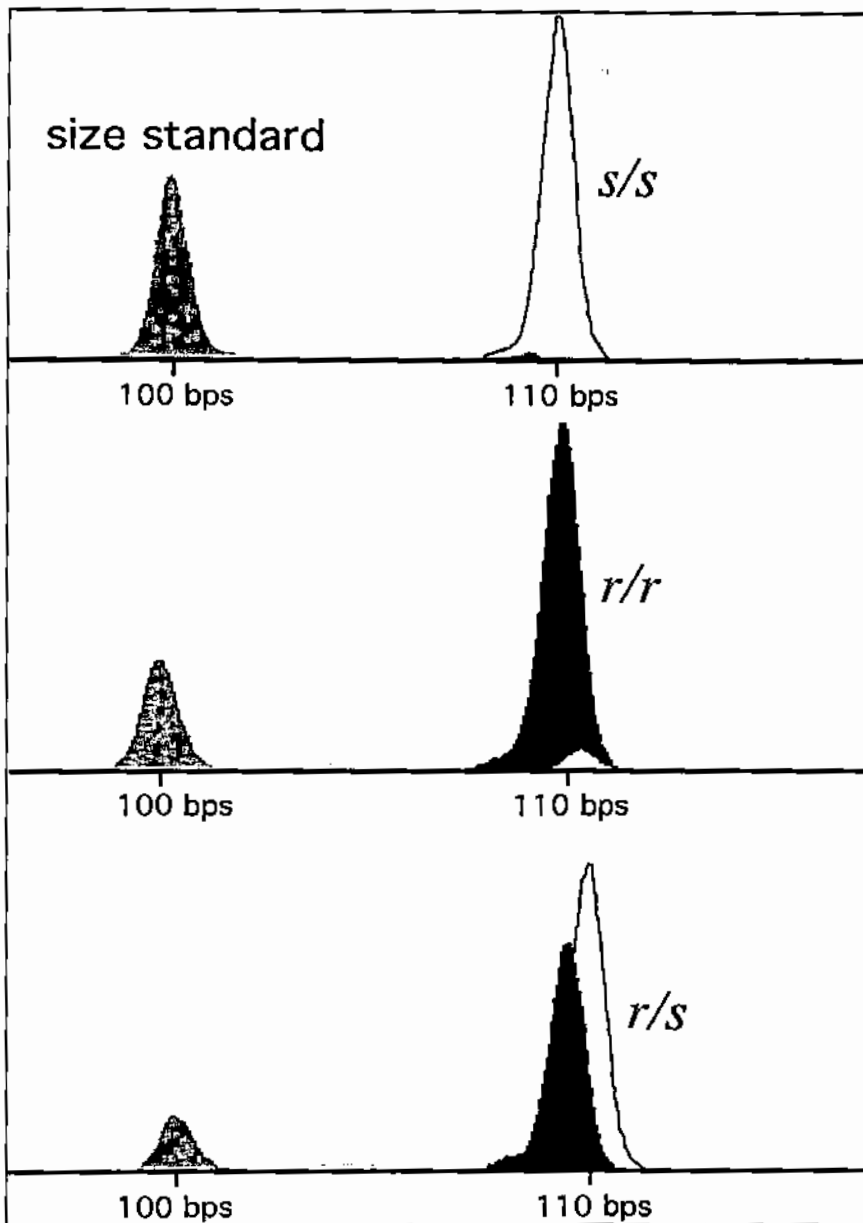
AGREA

(Resistant  
East Africa)

5'\_ TGGCCACTGTAGTGATAGGAAATTC 3'\_

Reverse primer

AGREV 5\_ GCAAGGCTAAGAAAAGGTTAAGCA



Chromatographs generated by Genescan after running the fluorescent PCR products generated by the *kdr* assay. The characteristic Allele-specific fluorescent peaks of homozygote susceptible *s/s* (top graph), resistant *r/r* (middle graph), and heterozygote *r/s* Individuals (bottom graph) appear at size 110 bps in all cases. A Nearby peak of fluorescence-labeled size standard (100 bps) simplifies The identification of the diagnostic peaks



## **ANNEXES 6**

### **Détermination de l'infection des moustiques par ELISA CSP**

#### **Mode opératoire:**

- mettre individuellement les têtes thorax dans les tubes Eppendorf de 1,5ml ;
- porter les références (date, lieu et méthode de capture, l'espèce capturée) ;
- ajouter 50 µl de BBNP40 (Nonidetp-40) dans chaque tube ;
- écraser mécaniquement à l'aide de petits pilons et ajouter 200µl de BB pour obtenir un volume final de 250µl dans les tubes ;
- déposer 50µl de l'anticorps monoclonal non marqué dans chaque puits d'une plaque de microtitration et laisser incuber pendant 30 minutes à la température ambiante ;
- aspirer l'anticorps non marqué, mettre 200 µl de BB (Blocking Buffer) et laisser incuber une heure de temps ;
- Aspirer le BB, puis mettre 50µl de chaque broyat de moustique dans les puits correspondants ;
- mettre en même temps les contrôles positifs et négatifs dans les puits correspondants et laisser incuber pendant deux heures,
- aspirer les broyats de moustiques et laver les plaques deux fois avec du PBS-TWEEN (solution de lavage);
- déposer 50µl d'anticorps monoclonal marqué à la peroxydase dans chaque puits et laisser incuber pendant une heure;
- aspirer l'anticorps monoclonal marqué et laver trois fois les plaques avec du PBS-TWEEN;
- ajouter 100µl de substrat révélateur (substrat ABTS) par puits;

- faire la lecture visuellement à partir de la coloration après 30 à 60 minutes: les puits de la plaque colorés en vert contiennent les moustiques positifs.

**Préparation des solutions :**

- Solution de lavage (PBS Tween) :

- dissoudre 9,65g de PBS dans 1000ml d'eau distillée et ajouter 500µl de Tween 20.

**Solutions des contrôles positifs :**

- Dissoudre 25µg de réactif dans 25µl d'eau distillée,

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

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

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

**Solution d'anticorps monoclonal non marqué**

Prendre pour une plaque 5ml de PBS et ajouter 20µl d'anticorps.

**Solution d'anticorps monoclonal marqué**

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

**Solution révélatrice**

Pour une plaque prendre 5ml de l'ABTS peroxydase substrat et 5ml de peroxydase solution B les mélanger assez bien par l'agitateur. Solution BBNP40: faire le mélange de 5ml de BB plus 25µl de NP40 et avec l'agitateur agiter pendant 15mn.

**Solution de BB (Blocking Buffer) pour 1 volume de 500ml:**

- Il faut:

**2,5g de caséine (0,5%),**

**50ml de NaOH (0,1N),**

**450ml de PBS (PH=7),**

**0,05g de Thimersol,**

**0,01g de phénol rouge.**

- Prendre 100ml de NAOH à 0,1N plus 5g de caséine et faire bouillir l'ensemble tout en agitant le mélange,

- une fois en ébullition arrêter le chauffage et ajouter petit à petit 900ml de PBS tout en agitant doucement,
- ajouter ensuite le Thimersol et le phénol rouge et laisser refroidir,
- le PH est ensuite ajusté à 7,4 par addition de goutte de HCl.
- Révéléateur à la peroxydase : pour une plaque, prendre 5ml de la solution de peroxydase A et 5ml de la solution de peroxydase B.

## **ANNEXES 7**

### **Identification des espèces et des formes moléculaires d'*An. gambiae* s.l. par PCR**

#### **Procédure.**

- Numérotter les tubes PCR (0.2ml) correspondant au nombre de moustiques à traiter.

- Mettre dans chaque tube une patte de moustique tout en prenant soin de relever dans un registre les références (étiquette) du moustique devant le numéro qui lui correspond.

- Mettre dans chaque tube 24µl de mixture et s'assurer que la patte est complètement submergée dans la mixture.

- Utiliser un contrôle positif pour M, A, S et un contrôle négatif.

- Placer les tubes à -20° et attendre à ce que la solution se congèle.

- Programmer la machine (programmable thermal Controller) au cycle d'amplification et attendre 94°C. Introduire les micros tubes (0.2) contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions, puis lancer la machine.

- Attendre à ce que la machine affiche sur l'écran FOR EVER ou 4°.

- Reprogrammer la machine à 37°C et ajouter 0.65µl de l'enzyme de digestion Hha I et attendre 6 heures avant de les faire migrer à l'électrophorèse ou bien de les garder à 4°C pour une migration prochaine.

Tableau : Composition des réactifs nécessaires pour la mixture à l'identification des espèces et des formes moléculaires d'*An. gambiae* s.l.

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales
PCR buffer(tampon)	10 X	1 X
dNTPs	10 mM	0.2 mM
Mgcl <sub>2</sub>	50 mM	2.5 mM
GA	20 ng/μl	6.25 ng
AR	20 ng/μl	18.75 ng
UN	20 ng/μl	12.5 ng
Taq polymerase	5U /μl	0.9 U

#### Cycle d'amplification

1. 94 °C pendant 7mn
2. 94 °C pendant 30 s
3. 50 °C pendant 30 s
4. 72°C pendant 30 s
5. 72°C pendant 7mn
6. 4°C température de conservation des amplifiants

Ce cycle est répété 29 fois à partir de l'étape 2.

#### 8.2 Séquence nucléotidique des différentes amorces pour l'identification des espèces et formes moléculaires

AG (*gambiae*)            5'-CTGGTTTGGTCGGCACGTTT - 3'

AR (*arabiensis*)        5'-AATTGTCCTTCTCCATCCTA - 3'

UN (universel)

5' -GTGTGCCCCCTTCCTCGATGT- 3'

### 8.3 Electrophorèse de L'ADN

#### 8.3.1 Préparation du Gel et Interprétation des bandes

Nous avons préparé un gel d'agarose à 2% sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H<sub>2</sub>O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophenol) ont été logés par puits.

La migration a été conduite dans un bac électrophorétique à l'aide d'un générateur (Electrophoresis power supply-EP301) sous un courant de 150 volts pendant 1 heure.

Après migration, les bandes ont été visualisées sous une lampe UV et photographiées à l'aide d'une camera quik shooter (IBI, model QSP/Hood # 14, catalog N° 46420).

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

Ainsi on a : 367 bp (*An. gambiae* forme M), 257 bp (*An. gambiae* forme S), 292 bp (*An. arabiensis*).

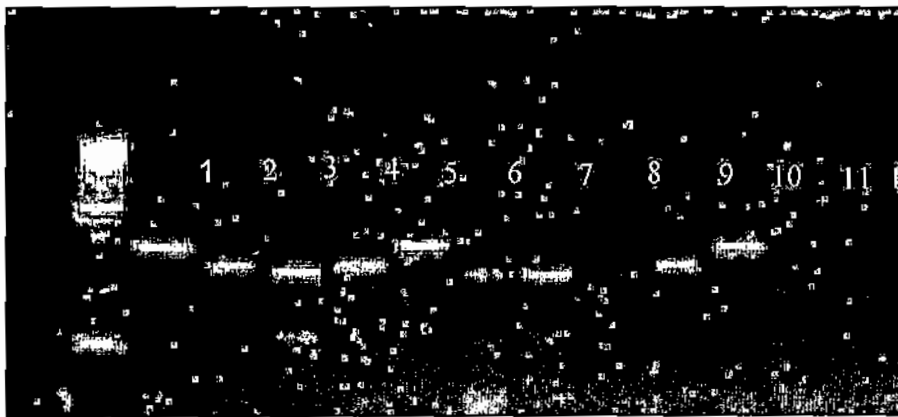


Figure 8: identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

Légende

- 1 : Marqueur moléculaire 100bp
- 2 : Contrôle positif forme M (espèce A)
- 3 : Contrôle positif d'*An. arabiensis* (espèce B)
- 4 : Contrôle positif forme S (espèce A)
- 5, 10 : *An. Arabiensis* (espèce B)
- 6, 11 : forme M (espèce A)
- 7, 8, 9, 12 : forme S (espèce A)
- 13 : Contrôle négatif.

## Fiche signalétique

**Nom :** TRAORE

**Prénom :** Mohamed Moumine

**Titre :** Situation de la transmission du paludisme et de la résistance aux insecticides d'*An.gambiae s.l.* en prélude à la pulvérisation intradomiciliaire à Niala (Bla) et à Niamina (Koulikoro)

**Année de soutenance :** 2008

**Ville de soutenance :** Bamako

**Pays d'origine :** Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la FMPOS

### Résumé.

La présente étude a été initiée en vue de planifier la pulvérisation intradomiciliaire dans 2 zones d'endémie palustre choisi comme zone pilote : Bla et Koulikoro d'Octobre 2007 à Janvier 2008.

Elle a montré que la lambda-cyhalothrine à la dose de 30mg/m<sup>2</sup> est efficace sur *An. gambiae s.l* dans les différents sites d'étude. Cependant une surveillance sera nécessaire, compte tenu du fait que l'efficacité est limitée dans 2 villages. Le bendiocarbe à la dose de 200mg/m<sup>2</sup> est également efficace dans les différents sites. Ce qui suggère que ces 2 insecticides pourraient être utilisés pour la pulvérisation intradomiciliaire. Toutefois la présence du gène *kdr* dans les 2 zones, peut présager une fréquence plus élevée de ce gène au cours et après la pulvérisation intradomiciliaire. Un monitoring rigoureux sera nécessaire afin de faire rapidement face à une éventuelle augmentation de la fréquence du gène *kdr*. Le taux d'inoculation entomologique à varier entre 13 piqûres infectantes par homme par mois et 1 piqûre infectante par homme par mois.



## Personal details card

**Last name:** TRAORE

**First name:** Mohamed Moumine

**Title:** Situation of the malaria transmission and resistance to insecticides of *An. gambiae* s.l. to plan of indoor residual spraying to Niala (Bla) and Niamina (Koulikoro)

**Year of viva voce:** 2008

**City of viva voce:** Bamako

**Country of origin:** Mali

**Registration of copy:** Library

**Area of interest:** Medical entomology

### Summary.

The present study was initiated in seen to plan indoor residual spraying in two malaria endemic districts selected like pilot zone: Bla and Koulikoro from October 2007 to January 2008.

It showed that the lambdacyhalothrine with the amount of 30mg/m<sup>2</sup> is effective over *An. gambiae* s.l in the various sites of study. However a monitoring will be necessary, taking into account the fact that which it is limiting in 2 villages. The bendiocarb with the amount of 200mg/m<sup>2</sup> is also effective in the various sites. This suggests that these 2 insecticides could be used for indoor residual spraying. Therefore the presence of the *kdr* gene in the 2 districts, can predict a frequency higher of this gene during and after indoor residual spraying. A rigorous monitoring will be necessary in order to prevent eventual increase in the frequency of the *kdr* gene. The entomological rate of inoculation varies between 13 infecting bites by man per month and 1 infecting bites by man per month.



## SERMENT D'HIPPOCRATE

*En présence des maîtres de cette faculté et de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail ; je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.*

*Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.*

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception. Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de connaissances médicales contre les lois de l'humanité.*

*Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*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**