

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

REPUBLIQUE DU

Un Peuple – Un But – Une Foi

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE BAMAKO  
FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO –  
STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2009-2010

N°...../



**TITRE**



**EVALUATION DE L'EFFICACITE DE LA  
LAMBDA-CYHALOTHRINE EN PULVERISATION  
INTRA-DOMICILIAIRE DANS LES CERCLES  
DE KOULIKORO ET DE BLA  
AU MALI**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 24 /02 /2010

Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-  
Stomatologie

**Par M. HAROUNA M. SOUMARE**  
**Pour obtenir le Grade de Docteur en PHARMACIE**  
**(DIPLOME D'ETAT)**

**JURY**

**PRESIDENT :**

**Pr. Amagana Dolo**

**MEMBRE :**

**Dr. Guimogo Dolo**

**CO-DIRECTEUR DE THESE :**

**Dr. Mamadou B. Coulibaly**

**DIRECTEUR DE THESE :**

**Pr. Sékou Fantamady Traoré**

## DEDICACES

*Je dédie ce travail à **Dieu** ;*

Le clément le très Miséricordieux de m'avoir donné la vie, le courage et les potentialités nécessaires ;

Continuer à m'assister

Amen !

**Allah** :

Donnes à mes yeux la lumière pour voir ceux qui ont besoin de soins ;

Donnes à mon cœur la compassion et la compréhension ;

Donnes à mes mains l'habileté et la tendresse ;

Donnes à mes oreilles la patience d'écouter ;

Donnes à mes lèvres les mots qui réconfortent ;

Donnes à mon esprit le désir de partager ;

Donnes-moi Allah le courage d'accomplir ce travail ardu et fait que j'apporte un peu de joie dans la vie de qui souffrent.

Amen !

**A** mes grands pères : **Feu Cheik Soumaré, Bamba Camara et Sékou Dangnoko**; Illustres disparus

Religieux, sincère, courageux, sens élevé de la responsabilité ;

Vous avez tout le temps été à mes cotés en me conseillant, en m'encourageant dans mes études. Mais hélas la mort vous a arraché à mon affection. Que ce travail vous apporte satisfaction jusque dans votre dernière demeure. Que la terre vous soit légère.

Amen !

**A mes grands-mères : Feue M'bamoussa Sakiliba, Koulaba Diarra et Koumouna Dabo** « Femmes des champs, femmes des rivières ... » .Je n'oublierai jamais ces mets très délicieux que vous m'avez offerts ;

Recevez ici l'expression de toute mon affection.

**A mon père ; Djibril Soumaré :**

Cher père ; sans toi je ne serai pas ce que je suis aujourd'hui ; tu m'as inscrit à l'école et as été pour moi un sauveur un conseillé un consolateur. Tu m'as apporté tout ton soutien, je te dois cette réussite .Ce travail est le fruit de tes efforts. Tu as été un bon père pour moi ; je n'oublierai jamais ton assistance dans les moments de maladies et de souffrance que j'ai traversés. Puis ce travail témoigne ta grandeur et ton amour pour moi.

Que Dieux te prête longue vie, paix et santé ; qu'il éclaire mon chemin et fasse que je ne te déçoive jamais.

**A mes mères : Maimouna Camara et Fatoumata Damba**

Les mots me manquent pour traduire ma reconnaissance et mon affection, ton soutien n'a jamais manqué ;

Que ce travail soit pour toi la récompense des efforts consentis. Je prie Dieux qu'il t'accorde une longue vie afin que tu puisses cueillir les fruits de l'arbre que tu as entretenu avec tant d'amour.

**A** mes grands frères : Cheik Soumaré, Mohamed Soumaré, Modibo, Cheik Djibril Soumaré, N'faly Soumaré et Namory Soumaré ; Vous avez toujours été là pour moi avec ce terme : « Prends du courage ça ira »

Je me battrais pour que je sois votre fierté. Sincères remerciements.

**A** mes grandes sœurs : Adama Soumaré, Djantou Soumaré, Hawa Soumaré, Oumou Soumaré, Sama Soumaré, Mariam Soumaré, Ramata Soumaré et M'bamoussa Soumaré, votre soutien m'a toujours accompagné ; sincères remerciements à vous.

**A** mes oncles : Doutigui Dangnoko, Mady Dangnoko,... et tous les **autres** ; merci pour tous ce que vous faites pour moi.

**A** mes petites sœurs : Fatoumata Soumaré, Koulababa Soumaré et Aminata Soumaré: Vous avez toujours partagé ces moments avec moi ; sincères remerciements à vous.

**A** mon jeune frère : Souleymane Soumaré, mes neveux et nièces : Mohamed Malé, Mohamed Touré Amadou Soumaré, Jérémy Ménil Daniel, Maïmouna Soumaré, Aïssata Soumaré, Fatoumata Soumaré, Ousmane Soumaré, Djibril Namory Soumaré, Mohamed Doumbia, Alima Koné et tous les **autres**.  
Que Dieux fasse que ce travail vous serve d'exemple

Aux tontons et aux tantes : Fakourou Soumaré, Yamadou Soumaré, Fily Damba, Tata Camara; vous représentez pour

moi des pères et des mères, votre soutien n'a jamais manqué, ce travail est le votre

**A ma femme Fatoumata F Sissoko:** Merci de m'avoir aimé, soutenu, et supporté tout au long de ces années. Que Dieu fasse que nous en partageons encore beaucoup d'autres pour que je puisse au fil du temps te dire à quel point tu comptes pour moi.

**A mon fils Mohamed Soumaré** ce travail est le fruit de l'œuvre de ma vie qu'il soit une source d'inspiration pour toi, reçoit mon affection et mon amour dans ce travail.

**A mes amis (e) :**

Mady Gatta Fofana, Mamadou Bouya Diah, Bakary Sissoko, Sory Diarra, Moussa Diarra, Fousseny Doumbia, Soumaïla Soumaoro, Baye Ouologuem, Fatoumata Touré et tous les autres ; sincères remerciement à vous tous.

**A tous mes maîtres de l'école fondamentale et du lycée :**Sambou Mariko sissoko, Daman Diarra, Bouakar Camara etc... ;

Sincères remerciements.

**A mes amis, collègues et camarades :**Bouyagui Dantchoko, Cheik Hamala Sidibé, Brehima Diallo, Amadou Guindo, Mohamed M Traoré, Sekou A Traoré, Mamadou Konaté, Sidy Doumbia, Bilkissou Yagouré, Cheick Omar Camara,

Aboubacrim M Touré, Fatoumata Sissoko, Gnagnan Traoré,..  
et toute ma promotion

**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 :

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 :

A mes maîtres :

Pr Sékou F.Traoré, Dr Seydou Doumbia, Dr Mamadou B.Coulibaly, Dr Guimogo Dolo, Dr Nafomo Sogoba, Dr Mahamadou Touré, Adama Dao, Alpha Yaro, Aboudramane Fofana, Moussa Diallo, Moussa Keita, Dr Sibiri Samaké, Dr Seydina Diakité, Dr Mandjou Sacko, Dr Bréhima Diakité, Dr Yaya Kassogué, Dr Boué Diallo, Dr Massiriba Koné, Cheick Amadou Coulibaly, Ibrahim Sissoko.

Une motion spéciale pour monsieur Adama Sacko : tu es un homme exceptionnel, tu as toujours été présent pour moi.

A tous les collaborateurs de l'unité Génomique et Protéomique du MRTC : Dr Amadou Guindo, Mamadou Konaté, Dr Brehima Diallo, Dr Mohamed Moumine Traoré, Amadou Sékou Traoré, Sidy Doumbia, Bilkissou Yagouré, Fatoumata Sissoko, Aboubacrim M Touré, yaya Traoré, Gnagnan Traoré,

**Aux messieurs : Dr. Sakai** affectueusement appelé grand père et **S. Karambé**, merci infiniment pour votre disponibilité et votre soutien.

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, Adama Dembélé.

Aux garçons de salle du MRTC.

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.

**A tous ceux que j'aurai oubliés.**

## **HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY**

**A notre Maître et Président du Jury**  
**Professeur Amangana Dolo**



Maître de conférences agrégé en parasitologie-mycologie à la FMPOS, Chef de D.E.R. de la parasitologie à la FMPOS, chef de l'unité d'Immunologie au MRTC.

Cher Maître,

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

L'honnêteté intellectuelle qui vous caractérise, votre courtoisie, votre humilité, votre sagesse et l'étendue de vos connaissances font de vous un homme admirable.

Trouvez dans ce travail l'expression de notre profonde gratitude.

**A notre Maître et Juge**

**Docteur 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.

La rigueur dans le travail, l'amour du travail bienfait et le sens élevé du devoir ont forcé notre admiration.

Ce travail est le fruit de votre volonté de parfaire, de votre disponibilité et surtout de votre savoir faire. Votre caractère sociable fait de vous un homme de classe exceptionnelle, toujours à l'écoute et à l'attention des autres. Les mots nous manquent pour vous remercier de tout ce que vous avez fait pour notre formation afin de faire de nous de bons pharmaciens.

Acceptez ici notre profonde gratitude.

**A notre Maître et Codirecteur de Thèse**

**Docteur Mamadou B Coulibaly**

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

Vous avez consenti beaucoup de sacrifices pour nous assurer un encadrement de qualité pendant notre séjour à vos côtés.

Nous avons été séduits par la clarté de votre enseignement durant notre formation.

Votre simplicité, votre abord facile font que vous êtes admiré de tous.

Trouvez ici cher Maître le témoignage de notre profond respect.

Puisse le Seigneur vous combler de grâce.

**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 nous réjouissons de la confiance que vous nous faites en nous acceptant comme élève.

Vous nous avez inspiré le sujet de cette thèse et apporté toutes les corrections nécessaires à ce travail.

Vous êtes restés toujours disponible et c'est le moment de vous rendre cet hommage mérité.

Durant notre stage effectué auprès de vous, nous avons pu apprécier et admirer le maître que vous êtes, et nous ne cesserons jamais d'évoquer votre compétence, vos qualités scientifique et humaine.

Cher maître, puisse le Seigneur vous donner longue vie, pleine de santé pour notre formation.

Puisse ce travail exprime toute notre estime, notre profonde gratitude, et notre entière confiance.

## LISTE DES ABREVIATIONS

**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**: Circum Sporozoite Protein

**DDT**: Dichloro diphenil trichloroethane

**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

**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** : Polymérase Chain réaction

**PID**: pulvérisation intra domiciliaire

**PMI** : President's Malaria Initiative

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

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

**RBM** : Roll back malaria

**RTI** : Research Triangle Institutes, Inc.

**TIE** : taux d'inoculation entomologique

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

**USAID**: United-States Agency for International Development

**%** : pourcentage

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : cycle parasitaire du paludisme chez le moustique et chez l'homme.....	7
<b>Fig. 2</b> : Œufs d'anophèles gambiae .....	8
<b>Fig. 3</b> : Larves d'anophèles .....	9
<b>Fig. 4</b> : Nymphe d'anophèles.....	10
<b>Fig. 5</b> Femelle adulte d'Anopheles gambiae sl .....	13
<b>Fig.6</b> Structure organique de la lambda-cyhalothrine. Nom chimique : (R)-cyanosa (3-phenoxyphenyl) methyl (1S, 3S)-3-[(1Z)-2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-1 propenyl]-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate.....	18
<b>Fig. 7.</b> Cibles de la lutte antivectorielle au cours du cycle gonotrophique.....	19
<b>Fig.8</b> République du Mali avec les sites d'étude.....	29
<b>Fig. 9</b> : caisse de transport des moustiques. Gauche : Avec des pots. Droite : Couverte de serpillère légèrement mouillée.....	31
<b>Fig. 10</b> : Test en cône. Gauche : Agent introduisant les moustiques dans le cône témoin. Droite : Cône test.....	32
<b>Fig.11</b> :Taux moyens de Knock down par passage à koula et Karadiè....	36
<b>Fig.12</b> : Taux moyens de mortalités par passage à koula et Karadiè.....	37
<b>Fig.13</b> : Taux moyens de Knock down par passage à Tia, Niala et Bagadadji.....	38
<b>Fig.14</b> : Taux moyens de mortalité par passage à Tia, Niala et Bagadadji.....	39
<b>Fig.15</b> : Moyenne des taux d'agressivité, du taux d'infection et du taux d'inoculation entomologique par tranche de mois à Koulikoro (Koula+Karadiè).....	46
<b>Fig.16</b> : Moyenne des taux d'agressivité, du taux d'infection et du taux d'inoculation entomologique par tranche de mois à Bla (Tia+Niala+Bagadadji).....	

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1 :</b> Insecticides recommandés pour les pulvérisations intra domiciliaire et/ou l'imprégnation des moustiquaires.....	24
<b>Tableau 2:</b> Coordonnées géographiques des sites d'étude à Bla et à Koulikoro.....	30
<b>Table 3 :</b> Fréquences des espèces et formes moléculaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. en Novembre 2008 (3 mois après la PID).....	40
<b>Table 4 :</b> Fréquences des espèces et formes moléculaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. en Mars 2009 (7 mois après ère PID).....	41
<b>Table 5 :</b> Fréquences des espèces et formes moléculaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. en juillet 2009 (3 semaines après 2ème PID).....	42
<b>Table 6 :</b> Fréquences des espèces et formes moléculaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. en Octobre 2009 (5 mois après 2ème PID).....	43
<b>Tableau 7 :</b> Fréquence de piqûres des moustiques à l'intérieur et à l'extérieur des chambres pulvérisées à Koulikoro.....	44
<b>Tableau 8 :</b> Fréquence de piqûres des moustiques à l'intérieur et à l'extérieur des chambres pulvérisées à Bla.....	44
<b>Tableau 9 :</b> détermination de l'âge physiologique et du taux de survie quotidien des moustiques à Koulikoro.....	45



<b>TABLE DES MATIERES</b>	<b>Pages</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>1-4</b>
<b>Objectifs.....</b>	<b>5</b>
2.1 Objectif général.....	5
2.2 Objectifs spécifiques.....	5
<b>Généralités.....</b>	<b>6</b>
3-1-Cycle biologique du Parasite du paludisme.....	6
3-1-1 Cycle biologique du <i>Plasmodium spp.</i> chez le moustique.....	6
3-1-2 Cycle biologique du <i>Plasmodium spp.</i> chez l'homme.....	6-7
3.2. Cycle biologique du moustique <i>Anophèles</i> .....	8-13
<b>3-3. Insecticides.....</b>	<b>14</b>
3-3-1. Définition.....	14
3-3-2 Généralités.....	14
3.3.3. Classes d'insecticides.....	14
3.3.3.1. Insecticides minéraux.....	14-15
3-3-3-2- Les organophosphorés (OPs).....	15
3.3.3.3. Organochlorés .....	15-16
3.3.3.4. Carbamates.....	16
3.3.3.5. Analogues des hormones d'insectes.....	16
3.3.3.6. Pyréthrine/pyréthrinoïdes.....	17
3-3-3-7- Bactéries entomopathogènes.....	17
<b>3-3-4- Monographie de la Lambdacyhalothrine (Icon cs).....</b>	<b>18</b>
3-3-4-1- Activité de l'Icon CS.....	18
3-3-4-2- Structure de la lambda-cyhalothrine.....	18
<b>3.4 LUTTE ANTI-VECTORIELLE.....</b>	<b>19</b>
3.4.1 Méthodes de lutte non chimiques.....	20
3.4.1.1 Lutte mécanique.....	20
3.4.1.2 Lutte biologique .....	20
3.4.1.3 La lutte physique.....	20-21
3.4.1.4 Lutte génétique.....	21

3.4.2- Méthodes de lutte chimique.....	21
3.4.2.1-Comportement des vecteurs face aux traitements intra domiciliaires.....	22
3.4.2.2 Toxicité et effet excito-répulsif des insecticides.....	22
3.4.2.3 Insecticide : choix, sécurité d'emploi, intoxication.....	23
3.4.2.4 Application des insecticides.....	25
3.4.2.4.1 Organisation .....	25
3.4.2.4.2 Formulation, spécifications, dosage, cycle.....	25-26
3.4.2.4.3 Modalité d'application et équipements.....	26
<b>3.5 RESISTANCE DES VECTEURS AUX INSECTICIDES.....</b>	<b>27</b>
3.5.1 Définition de la résistance.....	27
3.5.2 Principaux mécanismes de résistance.....	27
3.5.2.1 Résistances de comportement .....	27
3.5.2.2 Résistances physiologiques.....	27-28
3.5.2.3 Attitude face aux résistances.....	28
<b>4-MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>29</b>
4.1 Sites d'étude.....	29
4.2 Période et type d'étude.....	31
4-3-Test d'efficacité biologique avec les cônes (cône test).....	31
4-3- 1 Matériel .....	31
4-3-2-Procédure.....	31
4-3-2-1-Transport des moustiques aux sites d'études.....	31
4-3-2-2-Principe du test.....	32-33
<b>4.4 Elevage et collection des moustiques.....</b>	<b>34</b>
<b>4-5-Identification moléculaire des moustiques (procédure, voire annexes).....</b>	<b>35</b>
<b>4.6-Détermination des paramètres entomologiques.....</b>	<b>35</b>
4-6-1 Agressivité (m.a), parité et taux de survie quotidien .....	35
4.6.2-Détermination du taux d'infection (IAS) et du taux d'inoculation entomologiques (TIE).....	36

<b>4.7. Saisie et analyse des données.....</b>	<b>36</b>
<b>5 RESULTATS.....</b>	<b>36</b>
5-1 Tests d'efficacités biologiques sur les moustiques à Koulikoro.....	36
5-1-1 Taux moyens de <i>Knock down</i> par passage.....	36
5-1-2 Taux moyens de mortalités par passage.....	37
5-2 Tests d'efficacités biologiques sur les moustiques à Bla.....	38.
5-2-1 Taux moyens de <i>Knock down</i> par passage .....	38
5-1-2 Taux moyens de mortalités par passage.....	39
<b>5.3 Composition de la population vectrice par passages dans les sites d'étude.....</b>	<b>40-43</b>
<b>5.4. Etude du comportement de pique des moustiques et détermination du taux de parité des moustiques.....</b>	<b>44</b>
5.4.1 Etude du comportement.....	44
5-4-2 Détermination de la parité et du taux de survie quotidien.....	45
<b>5.5 Situation de la transmission du paludisme.....</b>	<b>46</b>
5.5-1 Détermination de l'agressivité (m.a) et de l'indice d'antigène sporozoïtique (IAS).....	46-47
<b>6 COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....</b>	<b>48-50</b>
<b>7 CONCLUSION ET RECOMMANDATION.....</b>	<b>51</b>
7-1 Conclusion.....	51
7-2 Recommandations .....	52
<b>8 Références .....</b>	<b>53-57</b>
<b>9. Annexes.....</b>	<b>i- vii</b>

## **1-INTRODUCTION**

Le paludisme est une maladie parasitaire fébrile causée par des protozoaires du genre *Plasmodium* transmis par des moustiques du genre *Anopheles*.

Il existe quatre espèces plasmodiales pathogènes pour l'Homme: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*. Une cinquième espèce, *Plasmodium knowlesi*, a été décrite comme infectant l'homme (Singh, Kim Sung et coll. 2004). Les vecteurs majeurs en Afrique sont les membres du complexe *Anopheles gambiae* et le groupe *Anopheles funestus* (Touré, 1979).

Plus de 2,4 Milliards de personnes sont exposées au risque du paludisme dans le monde avec 243 millions de cas par an (OMS, 2009). Le paludisme tue à peu près 1 million de personnes chaque année dans le monde dont une majorité d'enfants de moins de cinq ans. L'Afrique est le continent le plus touché, avec environ 85 % des cas de paludisme et plus de 3000 décès par jour (OMS 2009).

Au Mali, le paludisme est la première cause de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins 5 ans avec des taux respectifs de 27,16 % et 26,13 % dans la population générale (PNLP, 2004).

Les pertes économiques dues au paludisme pour l'Afrique sont énormes. Ce qui fait de cette maladie un véritable fléau qui freine le développement du continent.

Les principaux vecteurs rencontrés sont les membres du complexe *Anopheles gambiae* (abondants surtout en saison pluvieuse) et ceux du groupe *Anopheles funestus* (fréquents en saison sèche) (Touré, et al., 1979).

Ce modèle de répartition temporelle des vecteurs au Mali favorise la transmission continue du paludisme pendant toute l'année.

Le complexe *Anopheles gambiae* comprend sept espèces : *Anopheles arabiensis* et *Anopheles gambiae* s.s deux des vecteurs majeurs du paludisme en Afrique, *Anopheles melas*; *Anopheles merus*; *Anopheles bwambae*; *Anopheles quadriannulatus A*; *Anopheles quadriannulatus B* récemment décrite en Ethiopie (Hunt et al., 1998).

Au Mali *Anopheles gambiae* s.s. est subdivisé en trois formes chromosomiques dénommées : Mopti, Bamako et Savane (Touré et al., 1982). Grâce aux travaux de recherche des auteurs comme (Favia et al., 2001); Gentile, (2001) et (Fanello et al., 2002) ces formes chromosomiques ont été réparties en deux formes moléculaires : M (Mopti) et S (Bamako/Savane). Par ailleurs l'équivalence entre formes chromosomiques et formes moléculaires n'est vérifiée qu'en Afrique de l'ouest (Della Torre, 2001).

La lutte anti-vectorielle est l'une des composantes des stratégies globales de lutte antipaludique préconisées par l'OMS et adoptées par la DPNLP. Actuellement, il existe plusieurs méthodes pour prévenir la transmission du paludisme.

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 pyréthriinoïdes forment le seul groupe d'insecticides 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 anti-vectorielle sont essentiellement basées sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide.

Cependant, dans le cadre de la lutte intégrée du paludisme la direction du PNLN avec l'appui du PMI (President's Malaria Initiative), la RTI (Research Triangle Institutes, Inc.) et l'USAID (Agence américaine pour le

développement international) a décidé de conduire la pulvérisation intradomiciliaire dans deux cercles du Mali (Koulikoro et Bla).

Le principe de la méthode de lutte repose sur le comportement des vecteurs qui recherchent après chaque repas de sang, des endroits tranquilles et sombres pour le repos et la digestion. La PID permet ainsi de tuer ou de repousser les moustiques qui se posent sur les surfaces traitées avant et/ou après la prise de repas sanguins. En fait la PID écourte la vie des moustiques les empêchant du coup de transmettre le paludisme.

Les activités de la première pulvérisation se sont déroulées de juillet en Août 2008 et celles de la seconde en juin 2009. L'insecticide utilisé pour la PID a été la Lambda-cyhalothrine (Icon® 10CS). La réussite d'un tel programme nécessite des capacités techniques et gestionnaires.

Dans cette optique il existe un certain nombre d'exigences opérationnelles dont la plus importante est la couverture nécessaire pour être efficace, puisque que la PID ne confère pas de protection individuelle.

La couverture doit être:

- totale (traitement de toutes les habitations et structures pouvant servir de lieux de repos aux vecteurs);
- complète (couverture de toutes les surfaces à traiter);
- suffisante (application uniforme de la dose requise d'insecticide);
- régulière (répétition du traitement avant toutes les périodes de transmission).

La satisfaction de ces exigences nécessite une bonne organisation des agents correctement formés et équipés, un suivi et un contrôle de qualité (produits et application) réguliers et rigoureux.

Pour ces raisons une évaluation de l'efficacité biologique de l'insecticide après la pulvérisation s'avère capitale. Cette étude se place dans le cadre du suivi de l'efficacité, dans le temps, des surfaces traitées avec l'insecticide pour tuer les moustiques. La rémanence de l'insecticide étant connue comme une perte d'efficacité pour quelques raisons que ce soient causerait un échec pour l'intervention. Le suivi de cette efficacité permet donc de rapidement déceler des éventuels problèmes liés à l'application de l'insecticide afin de prodiguer des recommandations pour la réussite des opérations. Ce suivi inclut aussi une évaluation dans le temps de paramètres entomologiques tels que le taux d'infection, le taux d'inoculation entomologique, l'agressivité, le taux de survie quotidien et le taux de parité.

## **2-OBJECTIFS :**

### **2-1.Objectif général**

Evaluer l'efficacité biologique de la PID ainsi que les paramètres entomologiques à Koulikoro et à Bla

### **2-2.Objectifs spécifiques**

-Evaluer la qualité de l'aspersion sur les murs pulvérisés par des tests en cônes

-Déterminer les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme après la pulvérisation intradomiciliaire



### 3-GENERALITES

#### 3-1-Cycle biologique du Parasite du paludisme

##### 3-1-1 Cycle biologique du *Plasmodium spp.* chez le moustique

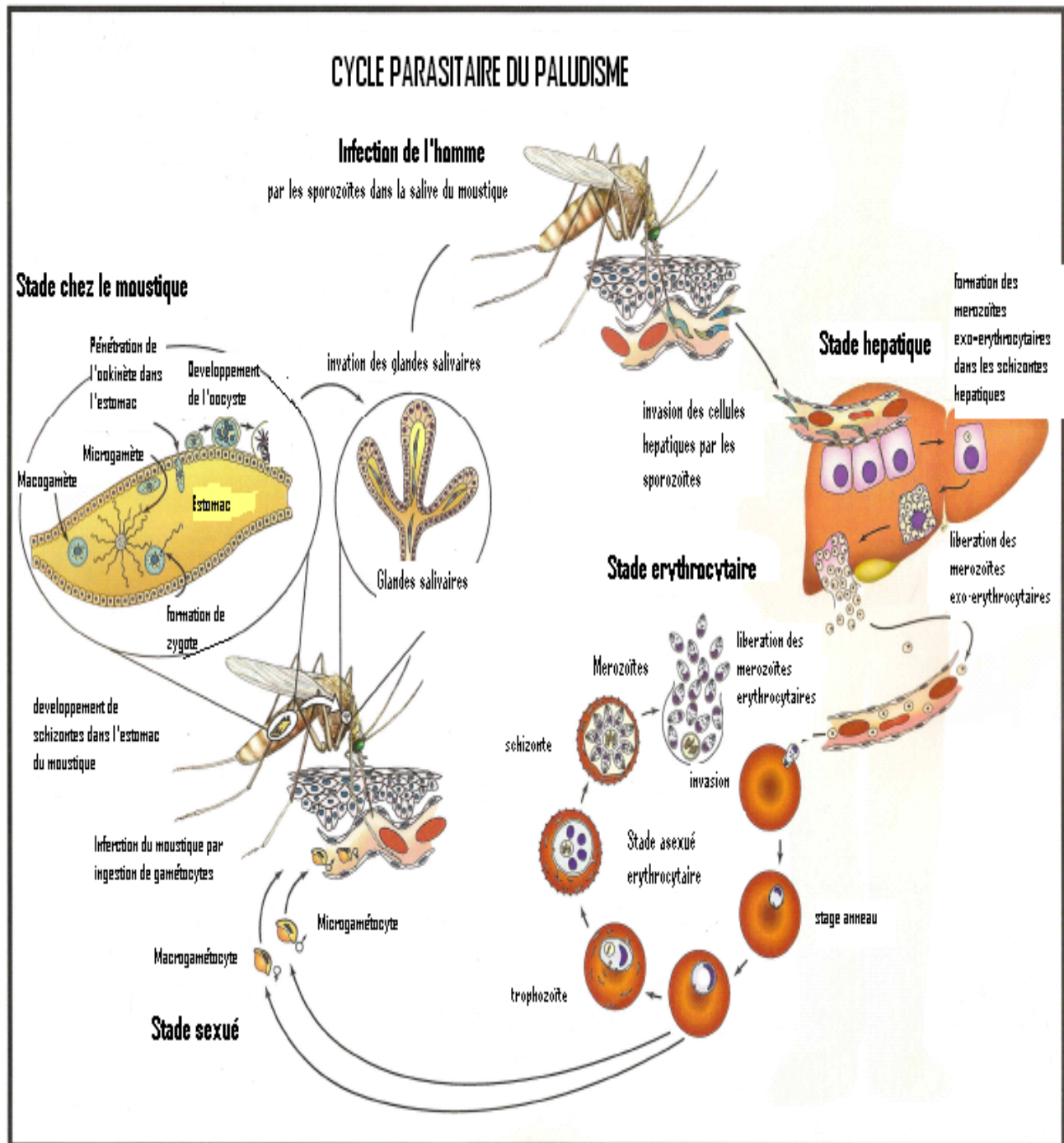
Lorsque les parasites au stade adéquat (**gamétocytes**) sont ingérés par le moustique lors du repas sanguin, ils forment des **gamètes** dans l'estomac de l'insecte. Les gamètes mâles et femelles, issus des gamétocytes mâle et femelle, s'unissent pour former un **zygote** mobile appelé **ookinète**. L'ookinète pénètre la paroi de l'estomac et devient un **oocyste** sphérique. A l'intérieur de l'oocyste, le noyau se divise à répétition. Un grand nombre de sporozoïtes est formé et l'oocyste grossit. Quand les **sporozoïtes** sont complètement développés, l'oocyste se rompt, les libérant dans la cavité générale du corps du moustique. Ils migrent alors vers les glandes salivaires. Le délai nécessaire pour la maturation des sporozoïtes varie avec la température et dans une moindre mesure, avec l'espèce de *Plasmodium* et avec l'humidité. Il est généralement de 15 à 18 jours.

Le moustique femelle a besoin d'un repas sanguin pour assurer la maturation de ses œufs, et comme elle pond plusieurs fois des œufs au cours de son existence, elle devra prendre plusieurs repas sanguins et aura plusieurs occasions de prélever des parasites du paludisme et de les transmettre.

##### 3-1-2- Cycle biologique du *Plasmodium spp.* chez l'homme

Les sporozoïtes (stade infectant pour l'homme) sont injectés dans le sang avec la salive du moustique lorsque celui-ci pique. Par voie sanguine, ils atteignent le foie où ils se multiplient. Pendant une période de 7 à 12 jours, ils s'y multiplient jusqu'à ce que la cellule hépatique infectée éclate. Les parasites (**mérozoïtes**) sont alors libérés dans la circulation sanguine et envahissent les globules rouges à l'intérieur desquels ils se multiplient à nouveau. Les globules rouges infectés sont détruits et les

parasites libérés envahissent de nouveaux globules rouges et y recommencent leur multiplication.



**Fig.1 :** Cycle parasitaire du paludisme chez le moustique et chez l'homme. (Source June Mullis Virginia Tech University).

### 3-2- Cycle biologique du moustique *Anophèles*

Il comprend quatre stades de développement: **l'œuf**, **la larve**, **la puppe (nymphe)** et **l'adulte (imago)**. La durée de chaque stade de développement dépend de la température (Holstein, 1949) ou de la nature de l'eau (Yaro *et al.*, 2006).

#### ✓ **Œufs**

Après la copulation, la femelle a besoin d'un repas de sang pour faire mûrir le premier lot d'œufs. Un repas sanguin est généralement pris tous les deux jours, conduisant à la maturation du lot d'œufs suivant. Chaque lot comporte 100 à 400 œufs qui sont déposés sur la surface de l'eau lors de la ponte (Yaro *et al.*, 2006). Les sites d'oviposition sont très variables. Chaque espèce de moustique préfère une variété bien déterminée de surface aquatique pour déposer ses œufs. Les facteurs environnementaux qui déterminent les gîtes favorables sont d'ordre biologique, chimique et physique (Bates, 1949).

Un moustique femelle continue à pondre pendant toute son existence. La plupart des femelles pondent 1 à 3 fois, mais certaines peuvent pondre jusqu'à 5 à 7 fois.



**Fig. 2 :** Œufs d'anophèles (<http://www.lmca.us/education/lifecycle/life12.htm>)

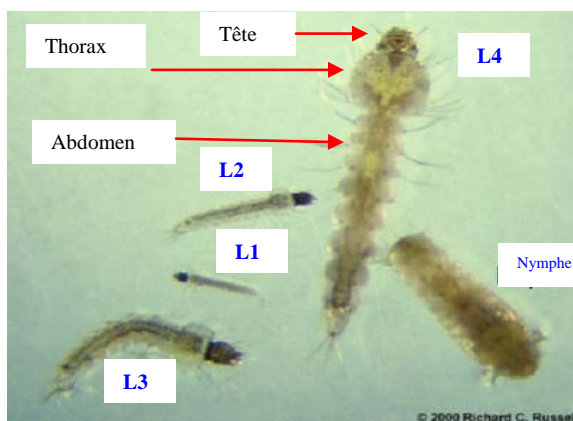
### ✓ **Larve**

Une larve sort de l'œuf après un ou deux jours (Rodhain *et al.*, 1985) et flotte parallèlement juste sous la surface de l'eau car elle a besoin de respirer de l'air. Elle se nourrit de particules présentes dans l'eau (OMS, 2003).

A la sortie de l'œuf, la larve mesure à peine un millimètre de longueur et présentent sur la tête un petit éperon qui facilite leur mise en liberté.

Si on la dérange, elle plonge rapidement vers le fond mais elle reviendra sans tarder à la surface pour respirer.

Il y a quatre stades larvaires ou **instars**. La larve qui sort de l'œuf est appelée le **premier instar**. Après un jour ou deux, elle mue, abandonnant son enveloppe et devient ainsi le **second instar**, suivi par le **troisième** et le **quatrième instar**, à des intervalles d'environ deux jours chacun. La larve reste au stade de quatrième instar pendant trois ou quatre jours ou plus, avant de se changer en pupes. Le temps total passé au stade larvaire est généralement de huit à douze jours à la température normale de l'eau en milieu tropical (Rodhain *et al.*, 1985). Si la température est plus basse, les stades aquatiques prendront plus de temps pour se développer (OMS, 2003).

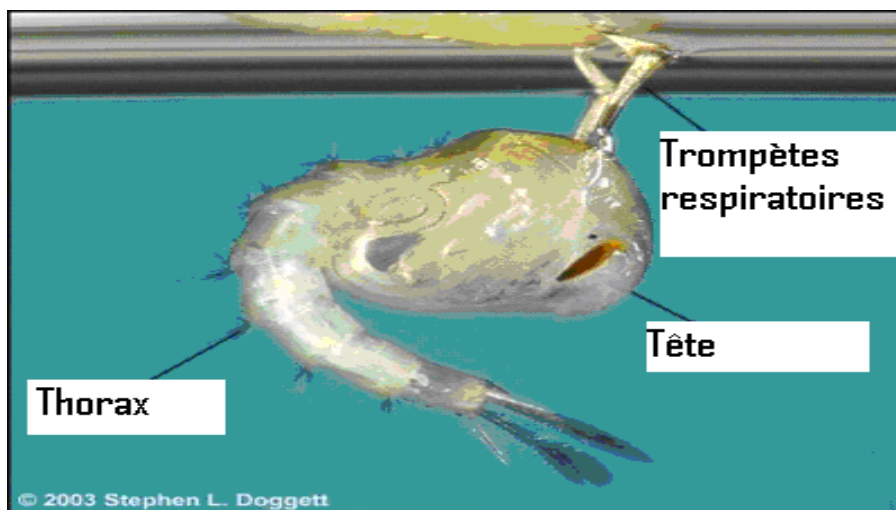


**Fig. 3** : Larves d'anophèles (<http://www.cdc.gov/malaria/biology/mosquito/>)

✓ **Pupe**

La pupe (nymphe) est le stade de passage de la vie aquatique à la vie aérienne (adulte). La pupe a la forme d'une virgule. Elle reste sous la surface, ne se nourrit pas (Mouchet *et al.*, 1991) et plonge au fond de l'eau si elle est dérangée. Le corps correspond au céphalothorax muni d'une paire de trompettes respiratoires, tandis que la pente correspond à l'abdomen qui se termine par une paire de palettes natatoires (Mattingly, 1969).

Le stade nymphal dure 2 à 3 jours (Gwadz *et al.*, 1996) après quoi la carapace de la pupe se fend, le moustique adulte émerge et se repose temporairement à la surface de l'eau jusqu'à ce qu'il soit capable de s'envoler.



**Fig. 4 :** Nymphe d'anophèles (<http://www.cdc.gov/malaria/biology/mosquito/>)

✓ **Adulte**

En général, la femelle ne copule qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à cette occasion assez de sperme pour féconder tous les lots d'œufs successifs. Normalement, elle ne prend son premier repas sanguin qu'après la copulation, mais parfois le premier repas sanguin peut être pris par une femelle encore vierge. Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces), tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul repas de sang (entomo., 2003).

A la fin du repas de sang, le processus de digestion se met en place et la maturation ovarienne commence. Le moustique passe successivement du stade gorgé à semi-gravide puis à gravide. La femelle n'est gravide que trente six (36) à quarante huit (48) heures après le repas de sang (Mouchet *et al.*, 1991). Elle va alors à la recherche d'un site favorable à la ponte.

Les habitudes de nourriture et de repos des moustiques sont d'une grande importance dans les programmes de contrôle et pour cette raison, elles doivent être bien comprises. La plupart des espèces d'anophèles piquent la nuit. Certaines piquent juste après le coucher du soleil, d'autres piquent plus tard, aux environs de minuit ou même aux petites heures matinales. Certaines espèces entrent dans les maisons pour piquer (**endophages**), d'autres préfèrent piquer à l'extérieur (**exophages**). Après que le moustique ait pris son repas de sang, il se repose pendant une courte période soit à l'intérieur (**endophiles**) soit à l'extérieur (**exophiles**).

**Les préférences trophiques** varient suivant les différentes espèces de moustiques. Certains préfèrent prendre du sang chez l'homme (**anthropophiles**), tandis que d'autres préfèrent le sang des animaux

(**zoophiles**). Il y a aussi des espèces zooantrophiles. Bien entendu, ceux qui préfèrent l'homme sont les plus dangereux, car ils sont susceptibles de transmettre la maladie d'homme à homme. Dans les meilleures conditions tropicales, la durée de vie des moustiques est de 3 à 4 semaines (Robert *et al.*, 1989).

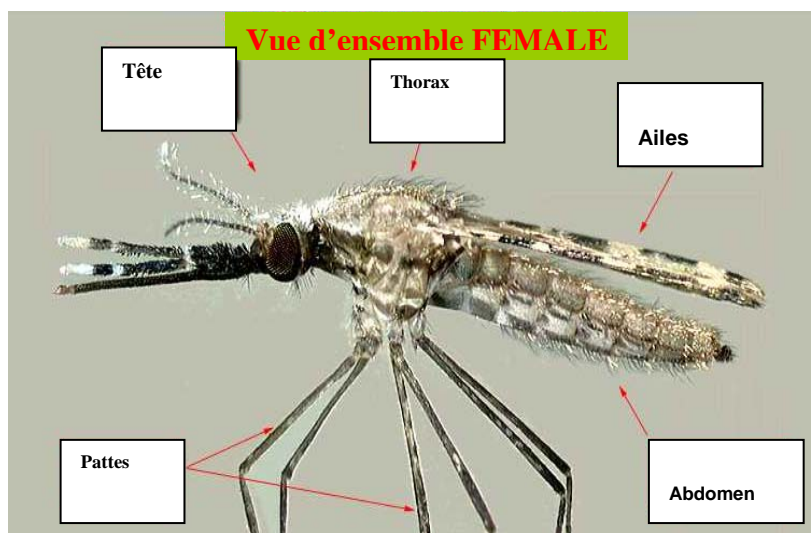
L'adulte comprend trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen.

- **La tête** : porte deux gros yeux composés, une paire d'antennes de quinze articles à soies nombreuses et longues chez le mâle, rares et courtes chez la femelle. La trompe, ou proboscis, est formée d'une pièce buccale particulière, le labium, formant une gouttière souple entourant les autres pièces buccales vulnérantes chez la femelle: l'hypopharynx, les deux mandibules et les deux maxilles. Certaines de ces pièces buccales forment deux canaux indépendants dans lesquels la circulation des fluides se fait dans des sens bien définis et inverses l'un par rapport à l'autre. Le plus gros est le canal alimentaire, délimité par le labre replié en gouttière. Le moustique y aspire le sang de l'hôte. Le plus fin est le canal salivaire, placé à l'intérieur de l'hypopharynx : la salive est injectée dans ce canal et circule depuis les glandes salivaires du moustique jusqu'à la partie distale de l'hypopharynx, à l'extrémité la plus avancée du point de piqûre dans l'hôte.

Ces caractéristiques morphologiques permettent à l'anophèle femelle d'ingérer un volumineux repas sanguin et d'injecter avec sa salive le stade infectant (sporozoïte) du *Plasmodium* lors de la piqûre. Deux palpes maxillaires sont situés de part et d'autre de la trompe. Chez la femelle, ils sont de la même taille que la trompe. Chez le male, ils sont plus longs et la partie distale est renflée et massue

- **Le thorax** est formé de trois segments portant chacun une paire de pattes. Le premier est réduit. C'est sur le second, très développé et renfermant de puissants muscles alaires, que s'insère une paire d'ailes. Sur le troisième est placée une paire d'haltères, ou balanciers, qui est l'homologue d'une paire d'ailes postérieures atrophiées, et qui joue un rôle dans l'équilibration du vol. Les six pattes, longues et graciles, sont formées de neuf articles. Les ailes présentent de nombreuses écailles claires et sombres leur arrangement sur le rebord costal est caractéristique des anophèles.

- **L'abdomen** est constitué de dix segments, dont sept sont bien visibles. Chaque segment est constitué d'une plaque chitineuse dorsale et d'une plaque ventrale reliées par une membrane qui autorise la dilatation de l'abdomen lors de la prise d'un repas de sang et lors de l'élaboration de la ponte dans les ovaires. Les trois derniers segments portent l'anus et les appendices génitaux, ou génitalias.



**Fig. 5 :** Femelle adulte d'*Anopheles gambiae sl* (hervey et al ORSTOM)



### **3-3. Insecticides**

#### **3-3-1. Définition**

Un insecticide est une substance ou préparation destinée à tuer les insectes.

#### **3-3-2 Généralités**

Un insecticide idéal pour la lutte contre les vecteurs de maladies doit avoir les propriétés suivantes ( Mc Gregor, 1988):

- une grande efficacité sur les vecteurs cibles ;
- une efficacité à faible dose, sans provoquer de résistance;
- une grande activité sur les autres insectes nuisibles
- une faible toxicité sur l'homme et les autres mammifères ;
- des effets minimes sur l'environnement ;
- une stabilité dans le milieu extérieur mais se dégradant dans la nature quand son activité disparaît.

#### **3.3.3. Classes d'insecticides**

Ils existent plusieurs classifications des insecticides parmi lesquelles la classification selon leurs compositions chimiques.

##### **3.3.3.1. Insecticides minéraux**

###### **- Huiles minérales**

Les dérivés du pétrole sont employés depuis longtemps sur les gîtes larvaires de moustiques, où elles agissent en asphyxiant et en intoxiquant les larves (Oueloguem, 1999). Bien qu'il n'y ait pas de résistance développée aux insecticides minéraux, leur utilisation a été réduite avec l'introduction des insecticides résiduels comme le DDT mais surtout à cause de leur toxicité (Mc Gregor, 1988).

#### **- Dérivés arsenicaux**

Le produit le plus connu est le vert de Paris (acétoarsénite de cuivre). Connu pour ses propriétés larvicides (Gentilini, 1993), le produit technique contient 90% de sulfate d'acétoarsénite. Il agit sur les larves d'anophèle ; c'est un produit très dangereux. Sa DL50 est de 100 mg/kg *per os* et de 2400 mg/kg par voie dermique chez le rat blanc (OMS, 1995).

Ses avantages sont surtout son manque de résistance croisée avec les autres insecticides et ses inconvénients sont l'importance du volume du matériel et sa faible rémanence et surtout sa toxicité ( Mc Gregor, 1988).

#### **3-3-3-2-Les organophosphorés (OPs)**

Ce sont des inhibiteurs de la cholinestérase (Gentilini, 1993). Cette inhibition a comme conséquence l'accumulation de l'acétylcholine (ACh) entre deux neurones ; soit entre le neurone/les jonctions (neuromusculaires) ou synapses. Cette accumulation provoque la contraction rapide des muscles volontaires et entraînant finalement de la paralysie (Ware, 2004).

Les OPs sont généralement divisés en trois groupes : dérivés aliphatiques, phényliques et hétérocycliques. Les premiers composés comme le parathion, étaient toxiques. Les dérivés modernes ont une toxicité faible pour les vertébrés homéothermes et les poissons. Ce sont de bons insecticides.

#### **3.3.3.3. Organochlorés :**

Ils agissent sur le système nerveux central et périphérique, modifie la cinétique d'inactivation du canal sodium, il a une action rapide (Knock down) et est irritant (Touré, 1979). Sa toxicité est assez faible contre les vertébrés, il a une forte rémanence, et est vendu moins cher. Il est

malheureusement très stable et entraîne une accumulation dans la chaîne alimentaire

Les principaux utilisés sont:

Le DDT (Diphenyl-Dichloro-Trichloroéthane) ou a marqué le début d'une nouvelle ère dans la lutte contre les insectes ;

Le HCH (Hexachlorocyclohexane) et son isomère (Lindane<sup>®</sup>, Gammexane<sup>®</sup>) ont pratiquement les mêmes utilisations que le DDT, mais sont deux fois plus toxiques et deux fois moins rémanents;

la Dieldrine est un Cycladiène toxique  $DI_{50}$  (dose létale 50) = 40-80 mg/kg de rats), jadis utilisée en poudre mouillable pour le traitement mural des habitations dans la lutte antipaludique, actuellement abandonnée en raison de la résistance développée par les insectes (Hamon et Sales, 1970).

#### **3.3.3.4. Carbamates**

Les carbamates sont les dérivés de l'acide carbamique. Ce sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ils agissent directement sans biotransformation sur ACHE en entraînant une toxicité plus marquée que les organophosphorés. Les carbamates sont peu utilisés en Santé publique à cause de leur coût élevé. Ils sont commercialisés sous différents noms : Propoxur<sup>®</sup>, Carbosulfan<sup>®</sup>, Bendiocarb<sup>®</sup> etc.

#### **3.3.3.5. Analogues des hormones d'insectes**

Ils sont repartis en deux groupes : Juvenoïdes et les Ecdysoïdes (Gentilini, 1986).

Les **Juvenoïdes** sont (méthoprène et Pyriproxyfen) actifs sur les larves des derniers stades inhibent la nymphose ou tue les nymphes ;

Les **Ecdysoïdes** inhibent la formation l'exosquelette de la larve après mue et sont actifs sur tous les stades larvaires ;

### **3.3.3.6. Pyréthrinés/pyréthrinoïdes**

Les pyréthrinoïdes perturbent la conduction de l'influx nerveux par le blocage des canaux de sodium (Bah, 1998). Il existe différents groupes :

**Pyréthrinoïdes** : sont issues du pyrèthre, ce sont les esters de l'acide Chrysantémique et de différents alcools ;

**Pyréthrinoïdes, dérivés synthétiques** : ce sont les premiers pyréthrinoïdes, peu stables (bioresméthrine, bioallethrine). Ils sont généralement commercialisés sous forme d'aérosols et de tortillons ;

**Pyréthrinoïdes stables** : ils ont été mis au point dans les années 1970 et sont de deux types : le type 1 est constitué par la perméthrine et le type 2 qui regroupe les cyanés, Deltaméthrine, Lambdacyhalothrine ;

### **Pseudo-pyréthrinoïdes**

Ces produits n'ont pas de liaison ester et ont une toxicité beaucoup plus faible que celle des pyréthrinoïdes. Ils modifient la cinétique d'inactivation du canal de sodium. Les pyréthrinoïdes de type 1 et le DDT ont un mode d'action similaire car ils maintiennent le canal de sodium en position ouverte de façon transitoire. Quant aux pyréthrinoïdes de type 2, ils maintiennent la membrane cellulaire dépolarisée.

### **3-3-3-7- Bactéries entomopathogènes**

Leur spécificité est plus ou moins grande selon les espèces ciblées. Une ou plusieurs toxines sont associées dans un cristal protéique. Cette association de molécules est toxique par ingestion. Sa pathogénicité (mal connue) entraînerait une lyse des cellules intestinales. Elle n'a aucune toxicité sur la faune non cible.

Exemples : *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) et *Bacillus sphaericus* (Bs).

### 3-3-4-Monographie de la Lambdaclyhalothrine (Icon cs)

#### 3-3-4-1-Activité de l'Icon CS

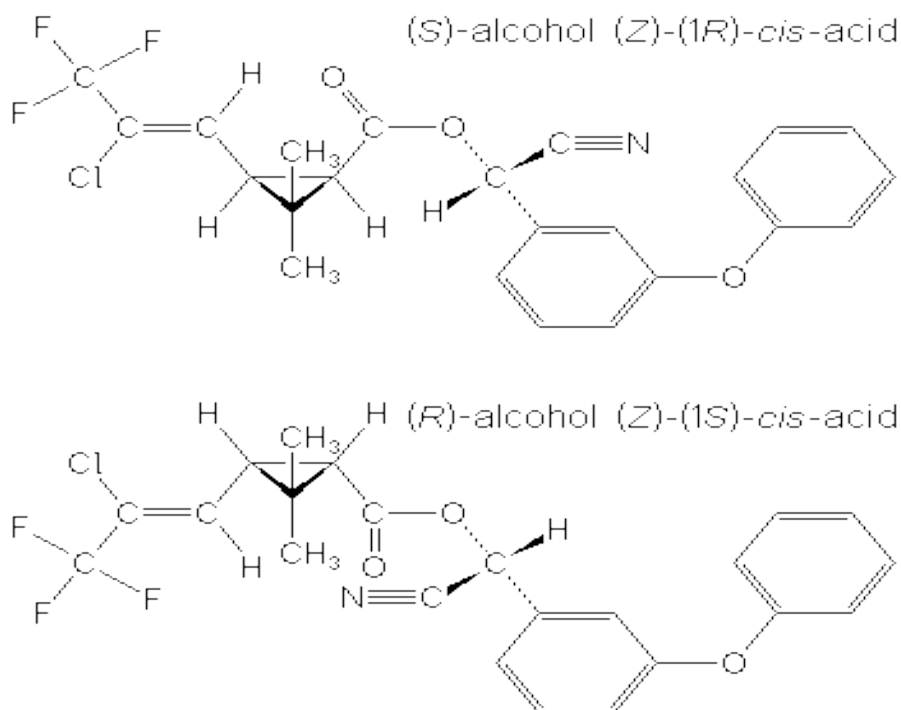
Son produit actif est la Lambdaclyhalothrine, un pyrétrinoïde d'une très grande activité. Il est efficace à des taux d'application très faible.

Une étude comparative de l'efficacité des insecticides de la famille pyréthriinoïdes, réalisée sur une variété de tissus, après 2 mn d'exposition, a démontré que la Lambdaclyhalothrine assomme mieux *Anopheles gambiae* que la Perméthrine (Vythilingham et al., 1999).

#### 3-3-4-2- Structure de la lambda-cyhalothrine

Ces formules représentent forme cis et trans de l'Icon, elles se composent de trois fonctions : ether-oxyde, nitrile, et esther. L'activité de la molécule dépend surtout de la présence des halogènes

Noms commerciaux: Icon® 10 WP, Icon® 2.5 cs, Icon 10 cs, Iconet ®

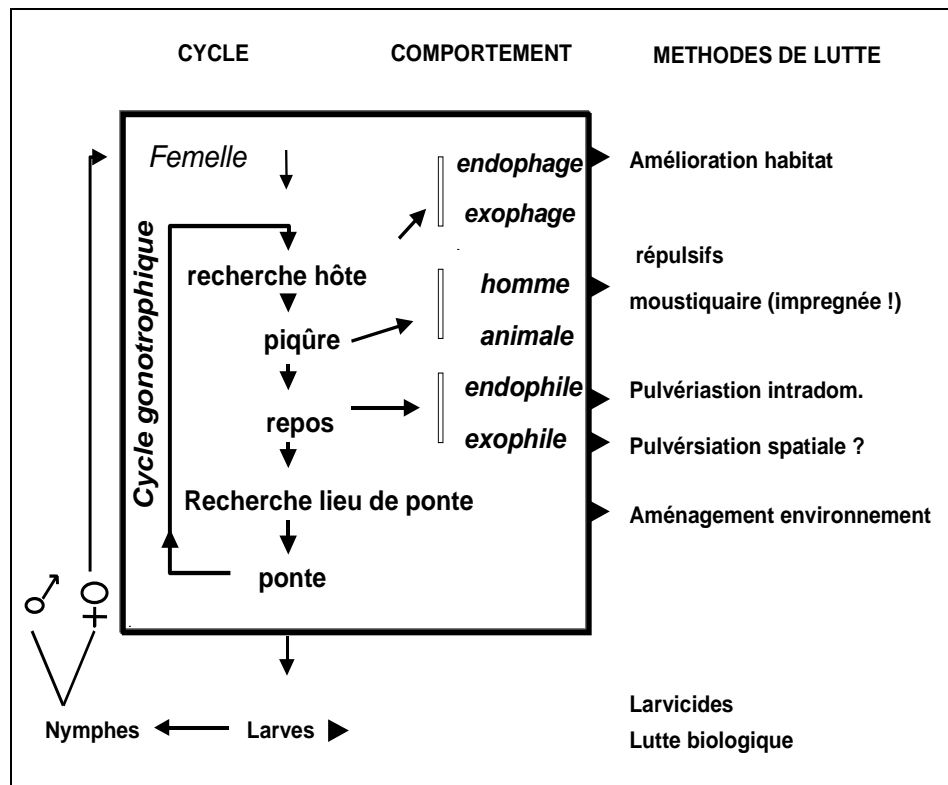


Source:<http://www.fluoridealert.org/pesticides/lambdaclyhalothrin.abstract.htm>

**Fig.6** Structure organique de la lambda-cyhalothrine. Nom chimique : (R)-cyanosa (3-phenoxyphenyl) methyl (1S, 3S)-3-[(1Z)-2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-1 propenyl]-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate

### 3.4 LUTTE ANTI-VECTORIELLE

L'objectif principal de la lutte anti vectorielle est la diminution de la morbidité et de la mortalité palustre grâce à l'abaissement du taux d'inoculation entomologique. L'inoculation nécessitant la présence du vecteur infecté, les méthodes actuelles visent principalement la réduction du contact homme vecteur, de la densité du vecteur et de la durée de vie du vecteur adulte (OMS, 2004a). La lutte antivectorielle a des cibles bien précises dans le cycle de développement du vecteur en fonction des stratégies (**fig 7**)



**Fig. 7.** Cibles de la lutte antivectorielle au cours du cycle gonotrophique (d'après Coosman et Carnevale, 1995)

### **3.4.1 Méthodes de lutte non chimiques**

#### **3.4.1.1 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.).

#### **3.4.1.2 Lutte biologique**

Elle consiste à introduire dans le biotope des moustiques, des espèces différentes qui sont leurs ennemies naturelles. C'est le cas du poisson lardiforme *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.

#### **3.4.1.3 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)).

- **Le drainage** consiste à faire évacuer les eaux stagnantes ? d'un 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 empoisonner. 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.

#### **3.4.1.4 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.

#### **3.4.2- Méthodes de lutte chimique :**

Il existe plusieurs méthodes de lutte chimiques parmi lesquelles les moustiquaires imprégnées d'insecticides et la pulvérisation intra domiciliaire.

La pulvérisation intradomiciliaire est l'application d'insecticide sur les surfaces intérieures des murs et toits des habitations et autres structures (magasins, latrines, étables, écoles, lieux de culte, etc.). Le but visé par la PID est la réduction de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme. Les objectifs spécifiques étant la réduction de la densité et de la longévité des vecteurs avec comme conséquence la réduction de la transmission



### **3.4.2.1-Comportement des vecteurs face aux traitements intra 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 où 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

### **3.4.2.2 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 à cause de la résistance des vecteurs dans les années 1960 (Akogbéto et al., 2005).

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

### **3.4.2.3 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 nasale 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 (Mouchet et al, 2004). Les pyréthriinoïdes 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 et l'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 cyperméthrine	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
Deltaméthrine	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 12 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	

Source : biodiversité du paludisme dans le monde (Jean Mouchet, Pierre Carnevale, Marc Coosemans, Jean Julvez, Silvie Manguin, Dominique Richard-Lenoble et Jacques Circoulon)

1. Classe: OC = organochloré; OP = organophosphoré ; C = carbamate ; P = pyréthrinoïdes ; NP = neopyrethrine
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.

### **3.4.2.4 Application des insecticides**

#### **3.4.2.4.1 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 verticalement hiérarchisées (Mouchet et al., 2004).

#### **3.4.2.4.2 Formulation, spécifications, dosage, cycle**

Les formulations sont variables en fonction des surfaces à traiter et 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 pyréthriinoïdes sont beaucoup plus dilués et se présentent en poudres mouillables à 5% (quelque fois jusqu'à 20%) (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 pyrétrinoïdes tant pour les

applications murales que pour l'imprégnation des moustiquaires en concentré de suspension (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 (Mouchet et al., 2004). Les dosages les plus couramment utilisés sont exprimés en mg/m<sup>2</sup> pour les pyréthriinoïdes, en g/m<sup>2</sup> pour les carbamates.

Le cycle des aspersion 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 marquée, les pulvérisations de DDT ne sont nécessaires qu'une fois par an, au début de la saison de transmission et pour les autres produits, deux traitements peuvent être nécessaires.

#### **3.4.2.4.3 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 (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.

### **3.5 RESISTANCE DES VECTEURS AUX INSECTICIDES**

**3.5.1 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.

#### **3.5.2 Principaux mécanismes de résistance**

##### **3.5.2.1 Résistances de comportement**

Elle résulte du changement de comportement d'une population endophile et/ou anthropophile pour un comportement exophile et/ou zoophile et vice versa. 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.

##### **3.5.2.2 Résistances physiologiques**

Elles résultent de l'apparition de mutations, à une très basse fréquence dans des populations d'insectes. 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 et cytochrome P450;
- Des mutations du site d'action des insecticides (récepteurs de l'acide gamma-amino-butérique ; GABA) pour la dieldrine ;

- L'altération du canal de sodium (gène *kdr* –*knock-down résistance*) pour le DDT et les pyréthriinoïdes;
- La modification des acétylcholinestérases pour les organophosphorés et les carbamates.

### **3.5.2.3 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.

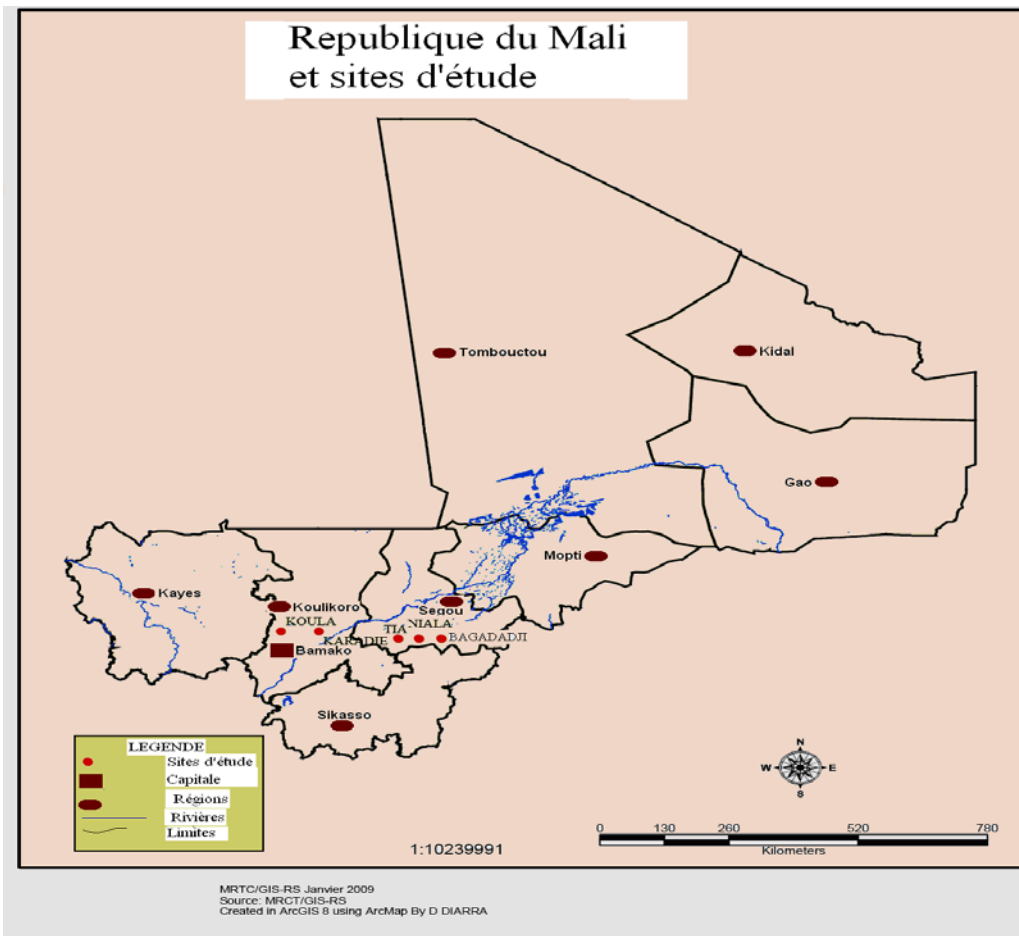
La plupart des propositions sont restées à l'état d'exercice intellectuel étant donné le faible nombre de classes de produits disponibles. Les contraintes des applications et les limitations drastiques dans le choix des insecticides du fait de leur toxicité réduisent d'avantage la mise en œuvre de ces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

## **4-MATERIELS ET METHODES**

### **4.1 Sites d'étude.**

La présente étude s'est déroulée dans cinq villages au niveau de deux cercles. Les villages sont Tia, Niala, Bagadadji (cercle de Bla), Koula et Karadie (cercle de Koulikoro). Tia, Niala et Bagadadji sont situés dans la commune rurale de Niala 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.

La commune rurale de Koula et le village de Karadiè commune rurale de Sirakorola sont du cercle de Koulikoro.



**Fig.8 République du Mali avec les sites d'étude. NB: Echelle non respectée**



**Tableau 2:** Coordonnées géographiques des sites d'étude à Bla et à Koulikoro

<b>Cercles</b>	<b>Villages</b>	<b>Longitude</b>	<b>Latitude</b>
Bla	Tia	-5.826559	12.938520
	Niala	-5.856959	12.945040
	Bagadadji	-	-
Koulikoro	Koula	-7.653310	13.115869
	Karadie	-7.599499	13.238770

Les coordonnées géographiques du village de Bagadadji n'étaient pas disponibles.

#### **4.2 Période et type d'étude.**

La présente étude s'est déroulée de novembre 2008 à novembre 2009. L'étude était de type transversal à passage répété.

La première pulvérisation s'est déroulée de juillet 2008 à Août 2008 et la seconde en juin 2009.

#### **4-3-Test d'efficacité biologique avec les cônes (cône test)**

##### **4-3-1Matériel**

Le kit pour le bio essai comprend :

- cônes transparents en plastique,
- un ruban adhésif pour fixer le cône,
- des tubes d'aspiration courbés et droits,
- du papier cartonné, de petits clous, du coton,
- des gobelets de carton fermés par un tulle moustiquaire, bracelets,
- marqueurs, cages de moustiques,
- une caisse en bois aérée (percée de grands trous), des serpières.

### **4-3-2-Procédure**

#### **4-3-2-1-Transport des moustiques aux sites d'études**

Des femelles adultes (Colonie d'*Anopheles gambiae*, souche Kisumu de 2-5 jours d'âge) ont été transportées sur les sites d'étude (villages) dans des pots de captures individuels couverts avec de tulle moustiquaire. Les pots étaient placés dans des caisses en bois et recouverts de serpillères légèrement mouillées (fig. 9). Les tests ont été effectués sur ces moustiques immédiatement après un repos d'une heure au moins et 24 ou 48 heures au plus.



**Fig. 9 :** caisse de transport des moustiques. Gauche : Avec des pots. Droite : Couverte de serpillère légèrement mouillée

#### **4-3-2-2-Principe du test**

Dans chaque village cinq chambres ont été sélectionnées pour effectuer les tests en cône.

- Un cône pour test a été placé sur chaque mur traité,
- Garnir le bord du cône de ruban adhésif (Fig 10),
- Fixer un carton sur la surface traitée et fixer dessus un cône comme témoin (fig. 10),
- Transférer 10 moustiques dans chaque cône et fermer le cône avec un tampon de coton (utiliser des aspirateurs différents pour les cônes témoins),

- Après un temps d'exposition (30 minutes), retirer prudemment avec l'aspirateur les moustiques et les transférer dans des gobelets séparés par cônes et étiquetés,
  - Dénombrer les moustiques assommés (*Knocked down*) ou morts à la fin de la période d'exposition. Ne pas éliminer les moustiques *Kd* car ils peuvent récupérer,
  - Placer un tampon de coton imbibé de solution sucrée à 5% sur le tulle de chaque gobelet, ranger les gobelets dans la caisse aérée et les recouvrir d'un linge humide,
  - Dénombrer les moustiques morts après 24 heures d'observation et déterminer le taux de mortalité observée dans les lots tests et les lots témoins.
- Si la mortalité observée chez les témoins est comprise entre 5% et 20%, la mortalité dans les lots tests doit être corrigée en utilisant la formule d'Abott. Si la mortalité chez les témoins dépasse 20%, l'expérience ne peut être validée.

**Formule d'Abott :  $\frac{\% \text{ mortalité test} - \% \text{ mortalité témoin}}{100 - \% \text{ mortalité témoin}} \times 100$**

-La température et l'humidité relative à l'intérieur des maisons ont été relevées aussi bien début et à la fin du test.



**Fig. 10 :** Test en cône. Gauche : Agent introduisant les moustiques dans le cône témoin. Droite : Cône test

#### **4.4. Elevage et collection des moustiques**

Les moustiques utilisés pour le test d'efficacité biologique sont issus de l'élevage à l'insectarium de la colonie d'*Anopheles gambiae* (souche Kisumu femelle âgée de 2 à 5 jours). L'élevage a été fait dans L'un des insectariums du centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC) à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Ils ont été maintenus à une température de  $27^{\circ}\text{C}\pm 1$  et une humidité relative oscillant entre 75 - 85%. L'insectarium est illuminé 12 heures sur 24 heures pour simuler l'alternance jour et nuit.

Les collections des moustiques par spray à l'aide des bombes d'insectide étaient faites de 15 H jusqu'à 18 H. Dans chaque village 30 chambres ont été pulvérisées. Des draps blancs ont été installés dans chaque chambre de manière à recouvrir le maximum de surface. Un opérateur pulvérise la chambre d'avant en arrière et les chambres étaient pendant 5 à 10 minutes. Après ce temps les moustiques étaient classés sur les fiches en fonction de leurs états de réplétion et conservés sur silicagel (desséchant) à la température ambiante et acheminés au laboratoire.

Les moustiques collectés par spray étaient destinés à l'identification moléculaire et la détermination des paramètres entomologiques.

Des séances de capture de nuit ont été conduites (CN) dont le principe est le suivant :

Dans chaque village deux chambres pulvérisées, où les tests de cône ont été effectués ont été sélectionnées. Il y avait deux captureurs par chambre dont un à l'intérieur et un autre à l'extérieur. Les collections commençaient à 18h00 et finissaient le lendemain matin à 6h00. Après capture, les moustiques étaient morphologiquement identifiés et disséqués la matinée vers 10 H pour déterminer le taux de parité (l'âge physiologique). Deux séances de captures de nuit ont été organisées dans chaque village dans les mêmes chambres à chaque passage.

#### **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-Détermination des paramètres entomologiques 4-6-1 Agressivité (m.a), parité et taux de survie quotidien**

Les captures de nuit ont été conduites pour déterminer les taux de parité, de survie quotidien et s'il y'a changement dans le comportement de lieu de piqûre et de repos des anophèles. Le taux de parité est le pourcentage des femelles pares par rapport au total capturé.

L'agressivité est le nombre de piqûre par personne et par unité de temps.

$$\mathbf{m.a = ((\# \text{ semi-gravide} + \# \text{ gorgés}) / (\# \text{ dormeurs})) * 30\text{jours}}$$

**#=nombre**

$$\mathbf{P=\text{Nombre de pare}/\text{nombre de nullipare}*100}$$

---

$$\mathbf{\text{Le taux de survie quotidien} = \frac{\text{taux de femelles pares}}{\mathbf{X}}}$$

**X=durée du cycle gonotrophique en jour**

#### **4.6.2-Détermination du taux d'infection (TI) et du taux d'inoculation entomologiques (TIE)**

Les têtes-thorax des moustiques issus du spray-catch ont été traités en ELISA CSP pour la détermination du TI et du TIE.

Le TI est égal au nombre de moustique positif à l'ELISA CSP sur le total traité multiplié par 100.

Le Taux d'inoculation entomologique (TIE) est le nombre de piqûre infectant par homme et par unité de temps.

$$TIE = m.a * TI$$

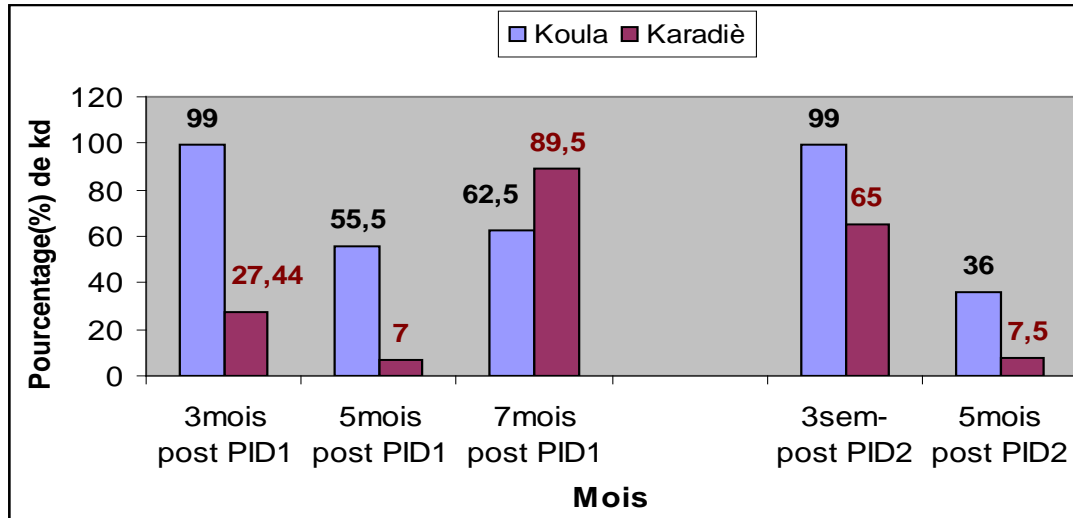
#### **4.7. Saisie et analyse des données**

Les données ont été saisies et analysées sur les logiciels Excel, SPSS version 12.0 et Epi604fr.

## 5. RESULTATS

### 5-1 Tests d'efficacités biologiques sur les moustiques à Koulikoro

#### 5-1-1 Taux moyens de *Knock down* par passage à Koulikoro



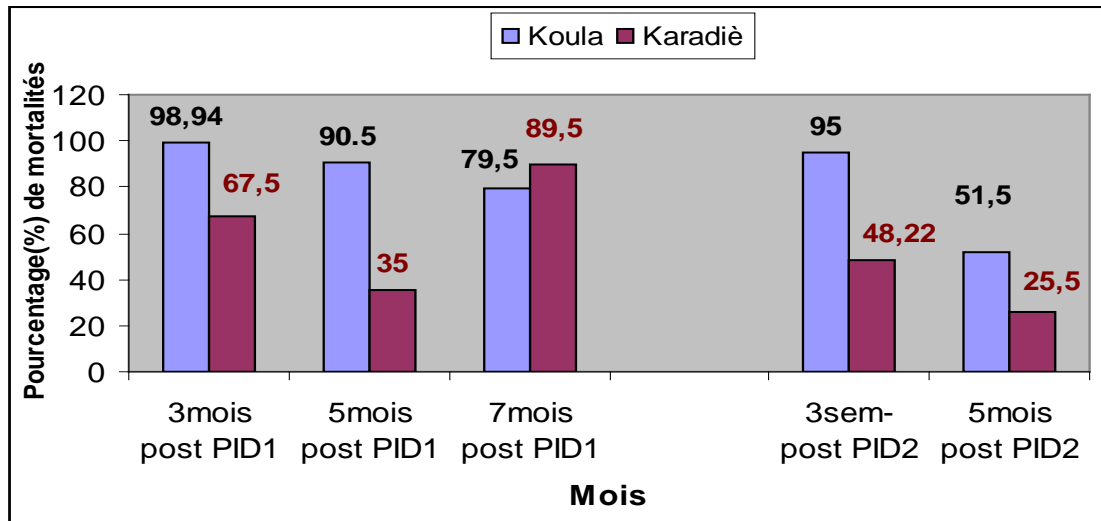
**Fig.11 : Taux moyens de *Knock down* par passage à koula et Karadié**

Post PID1=après première pulvérisation (Août2008). Post PID2=après seconde pulvérisation (Juin 2009).

Après la première pulvérisation le taux moyen de *knock down* a été, à Koula, de 99% en Novembre, 55,5% en Janvier et 62,5% en Mars et de 27,44% ; 7% et 89,5% à Karadié durant les mêmes mois.

Cependant, après la seconde pulvérisation le taux a été à Koula de 99% en Juillet et 36% en Novembre et de 65% et 7,5% à Karadié pendant les mêmes mois.

**5-1-2 Taux moyens de mortalités par passage à Koulikoro**



**Fig.12 : Taux moyens de mortalités par passage à koula et Karadié**

*Post PID1=après première pulvérisation (Août2008). Post PID2=après seconde pulvérisation (Juin 2009)*

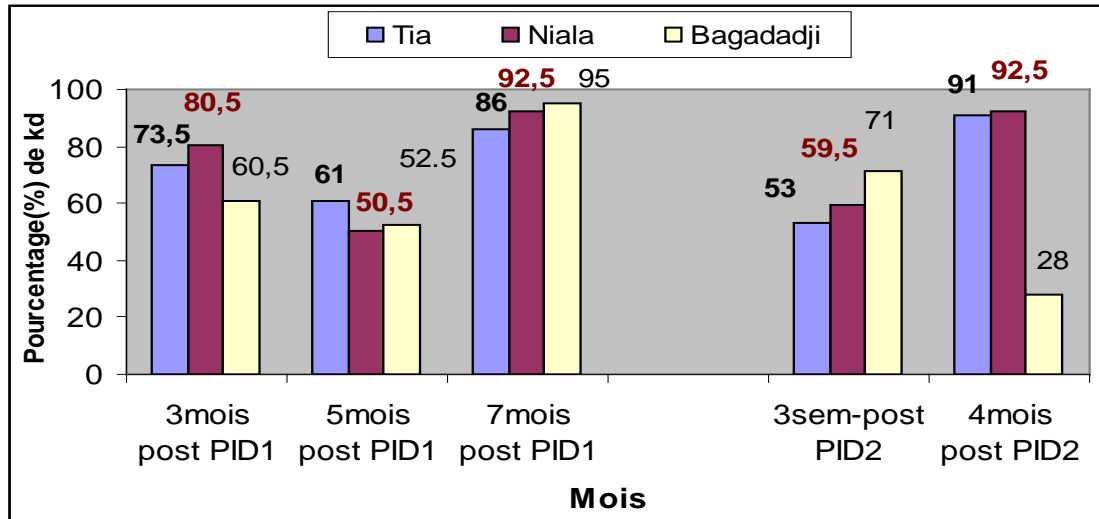
Après la première pulvérisation le taux moyen de mortalité à Koula a été de 98,94% en Novembre, 90,5% en Janvier et 79,5% en Mars et de 67,5%, 35% et 89,5% à Karadié durant les mêmes mois.

Cependant, après la seconde pulvérisation ce taux a été à Koula de 95% en Juillet et 51,5% en Novembre et de 48,22% et 25,5% à Karadié pendant les mêmes mois.



## 5-2 Tests d'efficacités biologiques sur les moustiques à Bla.

### 5-2-1 Taux moyens de *Knock down* par passage à Bla



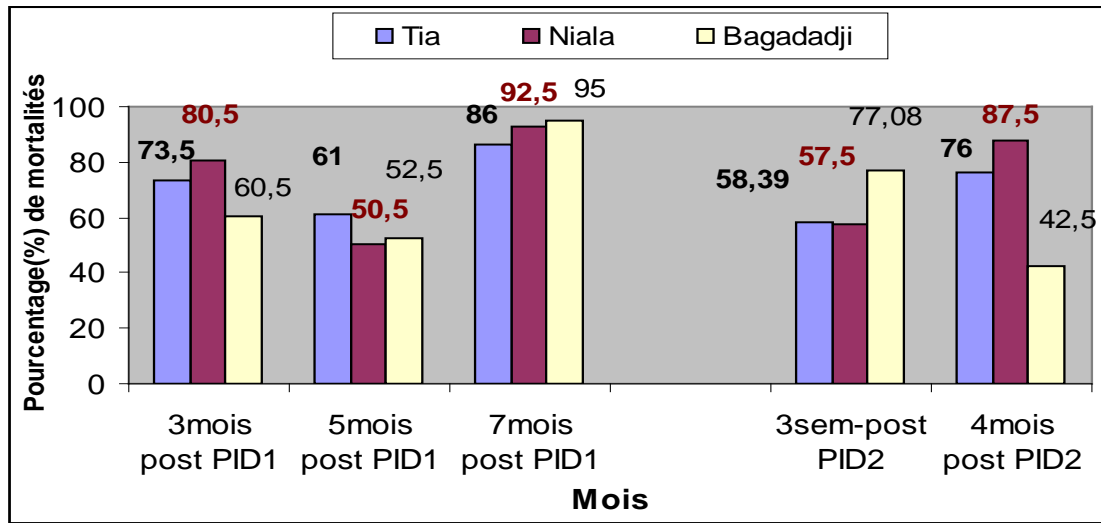
**Fig.13 :** Taux moyens de Knock down par passage à Tia, Niala et Bagadadji

*Post PID1=après première pulvérisation (Août2008). Post PID2=après seconde pulvérisation (Juin 2009)*

Le taux moyen de *knock down* a été respectivement en Novembre, Janvier et Mars après la première pulvérisation à Tia de 73.5%, 61% et 86%, à Niala de 80,5%, 50,5% et 92,5% et à Bagadadji de 60,5%, 52,5% et 95%.

Le taux a été respectivement en juillet et octobre après la seconde pulvérisation à Tia de 53% et 91%, à Niala de 59,5% et 92,5% et à Bagadadji de 71% et 28%.

**5-2-2Taux moyens de mortalités par passage à Bla**



**Fig.14 :** Taux moyens de mortalité par passage à Tia, Niala et Bagadadji

*Post PID1=après première pulvérisation (Août2008). Post PID2=après seconde pulvérisation (Juin 2009)*

Le taux moyen de mortalité a été respectivement en Novembre, Janvier et Mars après la première pulvérisation à Tia de 73.5%, 61% et 86%, à Niala de 80,5%, 50,5% et 92,5% et à Bagadadji de 60,5%, 52,5% et 95%. Ce taux a été respectivement en Juillet et octobre après la seconde pulvérisation à Tia de 58,39% et 76%, à Niala de 57,5% et 87,5% et à Bagadadji de 77,08% et 42,5%.

### 5.3. Composition de la population vectrice par passages dans les sites d'étude

**Tableau 3** : Fréquences des espèces et formes moléculaires d'*An. gambiae s.l.* en Novembre 2008 (3 mois après la PID)

Cercle	Espèces et formes ► Villages ▼	<i>An. gambiae s.s.</i>		<i>An. arabiensis</i>	Total
		M	S		
<b>Koulikoro</b>	Karadie	0	1	0	1
	Koula	0	1	4	5
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>
<b>Bla</b>	Tia	7	4	5	14
	Niala	0	2	0	2
	Bagadadji	0	0	0	0
	<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>16</b>
Total		7	8	9	22

Ce tableau montre qu'*An gambiae* s.s. était plus importante qu'*An arabiensis* dans les cinq villages (15) contre (9).

Les fréquences des formes M et S étaient similaires

**NB :** Les espèces et formes moléculaires étaient tous nulles au 5ème passage (Janvier) période pendant laquelle il faisait très frais dans les sites d'études.

**Tableau 4 :** Fréquences des espèces et formes moléculaires d'*An. gambiae* s.l. en Mars 2009 (7 mois après ère PID)

District	Espèces et formes ► Villages ▼	<i>An. gambiae</i> s.s.		<i>An. arabiensis</i>	Total
		M	S		
Koulikoro	Karadie	0	0	0	0
	Koula	0	1	0	1
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
Bla	Tia	1	0	2	3
	Niala	1	1	0	2
	Bagadadji	0	3	0	3
	<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>8</b>
<b>Total</b>		<b>2</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>9</b>

*An gambiae* était plus importante qu'*An arabiensis* dans les cinq villages (7) contre (2). Parmi *An gambiae* s.s., la forme S était prédominante sur M, (5) contre (2).

**Tableau 5 :** Fréquences des espèces et formes moléculaires d'*An. gambiae* s.l. en juillet 2009 (3 semaines après 2<sup>ème</sup> PID)

District	Espèces et formes ▶ Villages ▼	<i>An. gambiae</i> s.s.		<i>An. arabiensis</i>	Total
		M	S		
<b>Koulikoro</b>	Karadie	4	0	2	6
	Koula	5	0	2	7
	<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>13</b>
<b>Bla</b>	Tia	<b>337</b>	15	16	<b>368</b>
	Niala	59	3	7	69
	Bagadadji	63	5	2	70
	<b>Total</b>	<b>459</b>	<b>23</b>	<b>25</b>	<b>507</b>

*An gambiae* était beaucoup plus importante qu'*An arabiensis* dans les cinq villages (491) contre (29). Parmi *An gambiae* s.s., la forme M était prédominante sur S, (468) contre (23).

**Tableau 6 :** Fréquences des espèces et formes moléculaires d'*An. gambiae* s.l. en Octobre 2009 (5 mois après 2ème PID)

District	Espèces et formes ▶ Villages ▼	<i>An. gambiae</i> s.s.		<i>An. arabiensis</i>	Total
		M	S		
<b>Koulikoro</b>	Karadie	22	2	0	24
	Koula	20	1	0	21
	<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>45</b>
<b>Bla</b>	Tia	<b>31</b>	2	1	<b>34</b>
	Niala	8	0	0	8
	Bagadadji	6	0	0	6
	<b>Total</b>	<b>45</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>48</b>
	<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>93</b>

*An gambiae* était beaucoup plus élevée qu'*An arabiensis* dans tous les villages (92) contre (1). Parmi *An gambiae* s.s, la forme M était prédominante sur S, (87) contre (5).

#### **5.4. Etude du comportement de piqûre des moustiques et détermination du taux de parité des moustiques**

##### **5.4.1 Etude du comportement**

**Tableau 7 :** Fréquence de piqûres des moustiques à l'intérieur et à l'extérieur des chambres pulvérisées à Koulikoro

<b>Localités</b>	<b>Intérieur</b>		<b>Extérieur</b>		Total (N)
	n	m.a(nuit)	n	m.a(nuit)	
koula	9	0,9	4	0,4	13
Karadiè	2	0,2	0	0	2
Total	11	1,1	4	0,4	15

(Chi2 de Pearson =0,01, ddl= 1, P= 0,921) N=n+n

Ce tableau montre qu'il n'y avait pas de différence statistique significative entre la fréquence de piqûre à l'intérieur (P=0,61) ; (1,1) par rapport à l'extérieur (0,4).

**Tableau 8 :** Fréquence de piqûres des moustiques à l'intérieur et à l'extérieur des chambres pulvérisées à Bla

Localités	Interieur		Exterieur		Total (N)
	N	m.a(nuit)	n	m.a(nuit)	
Tia	52	5,2	66	6,6	118
Niala	18	1,8	20	2	38
Bagadadji	22	2,2	14	1,4	36
<b>TOTAL</b>	92	9,9	100	10	192

(Chi2 de Pearson = 0 ddl= 1, Pr =1) N=n+n

Dans le cercle de Bla, il y'avait pas de différence statistiquement significative (P=1) entre la fréquence de piqûre à l'intérieur (9,9) par rapport à l'extérieur (10).

#### 5-4-2 Détermination de la parité et du taux de survie quotidien

**Tableau 9** : détermination de l'âge physiologique et du taux de survie quotidien des moustiques à Koulikoro

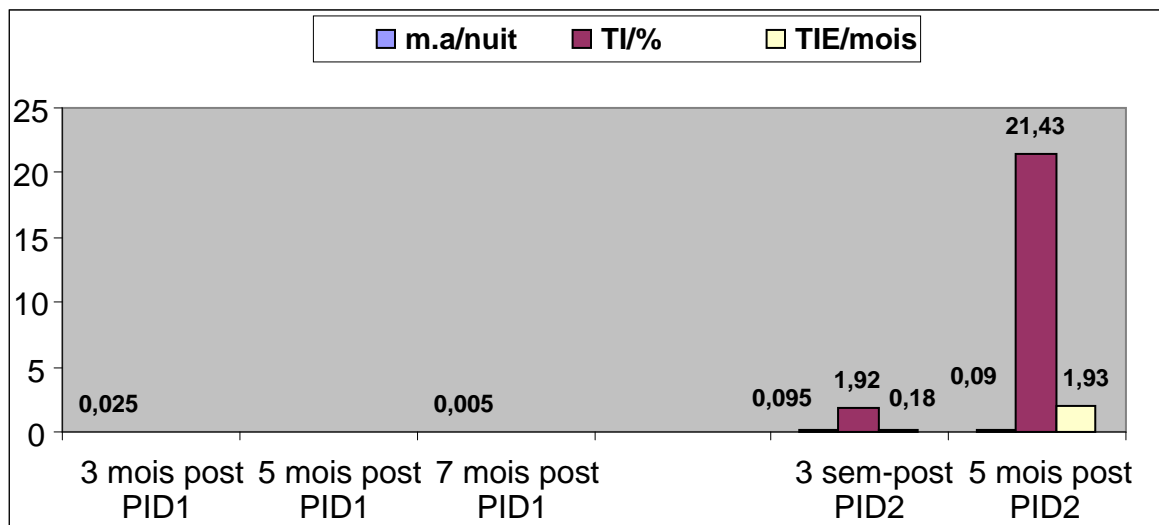
Localités	Nombre	Pare	Taux de survie/jour
Koula	13	12	<b>0,012</b>
Karadiè	2	2	<b>0,09</b>
Tia	118	<b>110</b>	<b>0,002</b>
Niala	38	<b>38</b>	<b>0,004</b>
Bagadadji	36	<b>36</b>	<b>0,006</b>
<b>TOTAL</b>	<b>207</b>	<b>198</b>	<b>0,023</b>



La proportion de femelles pares était plus importante que celles des nullipares dans tous les villages avec un taux de survie quotidien moyen de 0,023.

## 5.5. Situation de la transmission du paludisme

### 5.5-1. Détermination de l'agressivité (m.a) et de l'indice d'antigène sporozoïtique (TI)



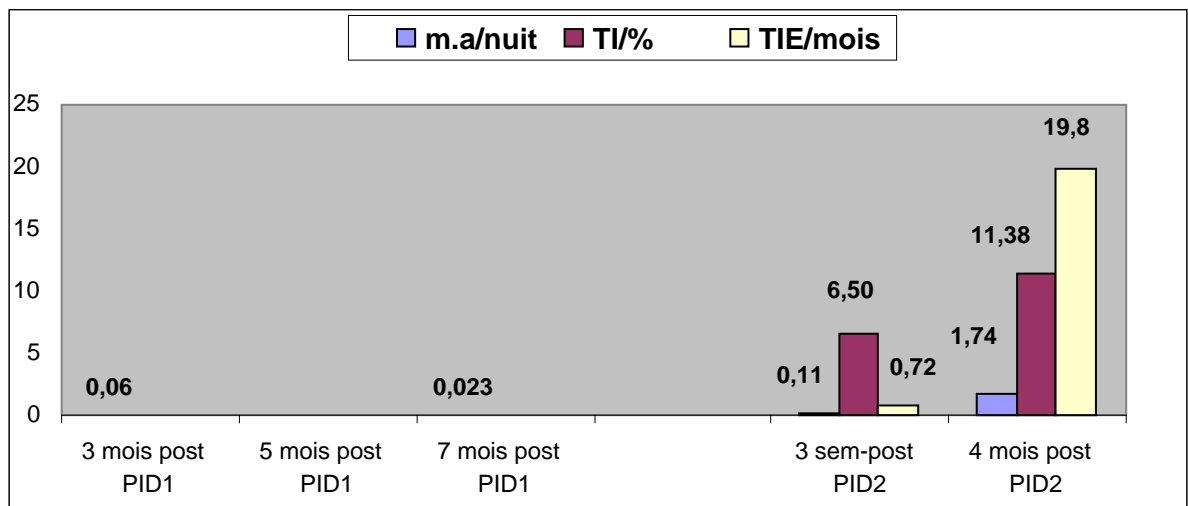
**Fig. 15 :** Moyenne des taux d'agressivité, du taux d'infection et du taux d'inoculation entomologique par tranche de mois à Koulikoro (Koula+Karadiè).

**Novembre 08 à Mars 2009**=données après première pulvérisation (Août 2008)

**Juillet à Octobre 2009**=données après la seconde pulvérisation (Juin 2009)

Pendant la première pulvérisation, l'agressivité a varié de 0,025 en Novembre 2008 à 0,005 en Mars 2009 alors que le TI et le TIE étaient tous nulles.

Cependant, après la seconde pulvérisation respectivement en Juillet et Novembre l'agressivité a variée de 0,095 à 0,009 ; le TI de 1,92% à 21,43% et le TIE de 0,18 à 1,93.



**Fig. 16 :** Moyenne des taux d'agressivité, du taux d'infection et du taux d'inoculation entomologique par tranche de mois à Bla (Tia+Niala+Bagadadji).

**Novembre 08 à Mars 2009**=données après première pulvérisation (Août 2008)

**Juillet à Octobre 2009**=données après la seconde pulvérisation (Juin 2009)

Pendant la première pulvérisation l'agressivité a varié de 0,06 en Novembre 2008 à 0,023 en Mars 2009 tandis que le TI et le TIE étaient tous nuls.

Après la seconde pulvérisation l'agressivité a variée de 0,011 en Juillet à 1,74 en Octobre 2009 et le TI et le TIE respectivement pendant les mêmes mois de 6,50% à 11,38% et de 0,72 à 19,8.

## **6 .COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

L'étude proprement dite est l'évaluation de l'efficacité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra domiciliaire dans les cercles de Koulikoro et Bla.

L'étude a été menée de Novembre 2008 à Novembre 2009.

Les cercles de Koulikoro et Bla ont été choisis car ce sont les deux cercles où la PID est conduite et ce sur la base de la prévalence élevée du paludisme pendant la saison pluvieuse qui s'étend pour 4 mois. Les villages ont été choisis sur la base de l'accessibilité sur la carte touristique du Mali.

### **o Test d'efficacité biologique sur les moustiques**

Le test d'efficacité biologique a été effectué dans tous les villages avec les cônes (cônes tests) sur les quatre cotés intérieurs de chacune des cinq chambres choisis par village dont un cône témoin par chambre.

L'insecticide qui a été utilisé pour la pulvérisation est la lambda-cyhalothrine de la famille des pyrèthrinoïdes (Icon<sup>®</sup>10cs).

Les résultats des tests d'efficacité biologique effectués dans les cinq villages montrent que l'insecticide sur les surfaces intérieures traitées reste encore efficace pour tuer les moustiques à sept mois après le premier traitement.

Par ailleurs l'augmentation de la mortalité au mois de Mars par rapport au deuxième passage dans tous les villages pourrait être due à l'effet couplé de la chaleur et de l'insecticide sur les moustiques.

Au Mali la période Mars-Mai est la plus chaude. Les températures étaient très élevées (33 – 42 °C, observations durant l'étude).

Après la seconde pulvérisation cette activité biologique était faible à Bla à quatre mois après la pulvérisation. Il faut noter qu'à part Bagadadji les mortalités ont augmentés à Tia ainsi qu'à Niala.

Dans le cercle de Koulikoro l'activité biologique était beaucoup plus faible au deuxième passage surtout à Karadiè et cela seulement à cinq mois après le second traitement. Ce phénomène observé dans les cinq villages lors de la seconde pulvérisation pourrait s'expliquer d'une manière générale par le biais de dosage, de manipulation et de l'application lors de la mise en œuvre de la technique.

Cependant, il faut noter que dans tous les villages excepté Koula, certaines maisons ont été remplacées à cause des habitudes de vie qui pourront expliquer en particulier l'augmentation des taux de mortalités après de la seconde pulvérisation.

○ **Composition de la population vectrice dans les sites d'étude**

L'espèce vectrice rencontrée a été *An. gambiae s.l* dans l'ensemble des villages. Sa densité était plus faible voir nulle après la première pulvérisation (tableau III, IV et V). Pendant cette période, Tia était le seul à avoir une densité élevée du fait de la présence d'un gîte semi permanent (voir tableau III et IV).

Cependant, après la seconde pulvérisation sa fréquence était élevée par tous surtout à Tia (tableau VI et VII).

Elle se compose d'*An. gambiae* s.s et d'*An. arabiensis*. Ces espèces sont trouvées en sympatrie (Fontenille et al., 2003). Cependant, *An. gambiae* s.s prédominait *An. arabiensis* sur toute l'année. La fréquence de la forme moléculaire S était supérieure à celle de la forme moléculaire M après la pulvérisation (saison sèche) alors que M prédominait sur S après la seconde pulvérisation (saison pluvieuse) dans l'ensemble des villages. Touré et al., (1998) ont démontré que la forme M semble remarquablement adapté aux zones d'irrigation et d'inondation et son pic est beaucoup plus élevé que les autres membres du complexe lié aux pluies.

○ **Détermination du comportement de piqûre, de la parité et du taux de survie quotidien**

Les paramètres entomologiques calculés à ce niveau ont été faites sur les moustiques issus des captures de nuit dans tous les villages.

Dans tous les sites d'études, la proportion des femelles pares étaient beaucoup plus importantes avec un taux de survie quotidien très faible surtout à Bla. Elle pourrait être dû à l'effet de la pulvérisation.

D'autres parts, les fréquences de piqûre à l'intérieur ainsi qu'à l'extérieur étaient presque identiques dans tous les villages.

Ce comportement de piqûre est jusqu'à présent favorable à la pulvérisation intradomiciliaire.

○ **Situation de la transmission du paludisme**

Les paramètres entomologiques calculés à ce niveau ont été fait sur les moustiques issus du spray catch dans tous les villages.

Il ressort de cette étude que dans les cercles de Koulikoro et de Bla à part l'agressivité qui était très faible l'IAS et le TIE étaient tous nulles lors de la première pulvérisation. Ces résultats pourraient être dus à la quasi

inexistence des gîtes de production des moustiques en cette période de l'année (saisons fraîche et sèche) et de l'effet de la pulvérisation.

Cependant, après la seconde pulvérisation à par l'm.a qui a diminuer, l'IAS et le TIE ont subi tous une variation croissante de juillet à Novembre à Koulikoro et de Juillet à Octobre à Bla; cela est en concordance avec l'abondance des pluies et de la diminution de l'activité insecticide sur les murs. Il faut signaler que le TIE était plus élevé à Bla du fait de la présence d'un gîte semi-permanent à Tia.

### **Limite de l'étude**

- Irrégularité des fonds car le protocole demande un passage mensuel
- Nombres limités de sites.

## **7 .CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

### **7-1 Conclusion :**

Le but de notre étude était d'évaluer l'efficacité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra-domiciliaire dans les cercles de Bla et de Koulikoro. Il ressort de cette étude que la pulvérisation était plus efficace lors de la première que lors de la deuxième pulvérisation.

Les taux de mortalités moyennes après la PID de 2008 étaient de 77% à Koulikoro et 75% à Bla.

Les taux de mortalités après la PID de 2009 étaient de 55,1% à Koulikoro et 60,80% à Bla.

Les espèces et formes moléculaires étaient très faibles après la première pulvérisation par contre ils étaient très élevés après la seconde pulvérisation.

Les paramètres entomologiques étaient tous nulles à part l'agressivité qui était très faible lors de la première pulvérisation. Ces paramètres étaient très élevés après la seconde pulvérisation surtout à Bla.

## **7-2. RECOMMANDATIONS :**

Au terme de cette étude et vue nos résultats nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

### **\*Aux autorités du Mali :**

La mise en place effective et rapide de la pulvérisation- intra domiciliaire.  
La pérennité et l'extension des activités 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* tout au long des opérations de la PID.

Evaluer l'impact de la PID sur la transmission du paludisme.

### **\*Aux populations des sites d'étude :**

De ne pas peindre les surfaces traitées avant six mois après la pulvérisation.

Un vif remerciement pour leur collaboration aux activités de recherche

## **8. Références**

**1. Akogbéto, M., Djouaka, R., Noukpo, H., 2005.** Use of agricultural insecticides in Benin. Bull. Soc. Pathol. Exot. 98, 400-405.

**2. Bah S., (1998).** Sensibilité d'*Anopheles gambiae s.l.* aux insecticides organiques de synthèse et divers extraits de plantes médicinales du Mali. Thèse pharmacie. *Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, pp.90.*

**3. Coosman M, Carnevale P** Malaria vector control : a critical review on chemical methods and insecticides. Ann soc Belg Med Trop 1995; 75 (1) : 13-31

**4. Della Torre A., Fanello C., Akogbeto M., Dossou-yovo J., FaviaG.,Petrarca V., and Coluzzi M. (2001).** Molecular evidence of



incipient speciation within *Anopheles gambiae* s.s. in West Africa. *Insect Mol. Biol.* **10**: 9-18.

**5.** Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, Edition provisoire : [www.who.int/malaria/docs/evc\\_lg2003\\_fr.pdf](http://www.who.int/malaria/docs/evc_lg2003_fr.pdf)

**6. Fanello 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.

**7. Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Siden-Kiamos I., and Louis C. 2001.** Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol. Biol.* **10**: 19-23

**8. Fontenille D, Cohuet A, Awono-Ambene Ph et Coll. (2003)** Systématique et biologie des anophèles vecteurs de *Plasmodium* en Afrique : données récentes. *Med Trop* **63** : 247-53.

**9. Gentilini, M. (1993)** Nuisances: Ectoparasites, myases, sangsues. *Médecine Tropicale* 5th edn, Flammarion-Médecine-Sciences, pp. 705-717.

**10. Gentilini, M. & Duflo, B. (1986).** Médecine Tropicale. Paris: Flammarion Médecine Science.

**11. Holstein M. (1949).** Etude sur l'anophélisme en AOF, Soudan Français, Bamako. *Bull. Soc. Path* **42**: 374-378.

**12. Lariviere M., (1978).** Parasitologie tropicale, les grandes endémies, épidémiologie, prophylaxie. *Foucher, Paris, pp.266.*

**13. Mc Gregor (1988).** Malaria vector control: Larviciding, Principes and Practice of Malariology, *Malaria, 1213- 1226.*

**14. Mattingly P. F., (1969).** The biology of mosquito-borne disease, in The science of biology, *Series I, ed by Carthy J D and Sutcliff J D , Allen & Unwin, London, pp 13-183.*

**15. 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.*

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

**17. OMS (1996).** Diflubenzuron – Genève: *OMS IPCS, Environmental, Health, Guteria, N184.*

**18. OMS(2003).** Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs.

**19. OMS(2009),** Rapport su le paludisme.

**20. Oueloguem T., (1999).** Etude de l'activité larvicide de quelques plantes médicinales du Mali sur les larves d'*Anopheles gambiae* s.s. et *Culex quinquefasciatus*. Thèse de Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali.

**21. PNLP- Mali, 2004.**

Rapport de la collecte des données de base pour le suivi et l'évaluation des interventions de lutte contre le paludisme

**22. Quilata J M et al., (1996).** Field trials on the effectiveness of lambda-cyhalothrin 10 CS (ICON 10 CS) treated mosquito nets as a malaria control method. Unpublished report.

**23. Rodhain F., and Perez C.( 1985).** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine. Les moustiques, systématique et biologie: Cycle de développement et biologie des différents stades. P 89.

**24. Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul S.S, Cox-Singh J, Thomas A and Conway DJ.** A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. Lancet 2004, 363: 1017-1024.

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

**26. Traoré (2008)**, 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

**27. 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.*

**28. Touré, Y.T.** Etude de la sensibilité d'*Anophèles gambiae* *sensu lato* aux insecticides dans la zone rurale de savane soudanienne au Mali. Cah. O.R.S.T.O.M., sér.Ent.Méd. et Parasitol., vol.XX, n°2, 1982 : 125-131.

**29. Touré Y.T., Petrarca V., Traoré S.F., Coulibaly A., Maiga H.M., Sankaré O., Sow M., Di Deco M.A., and Coluzzi M. (1998).** The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parasitologia* **40**: 477-511.

**30. Vythilingham L et al (1999).** Laboratory Evaluation of a Lambda-cyhalothrin. Microencapsulated Formulation on Mosquito Nets For Control of Vector Mosquitoes. *South East Asia Jnl of Trop. Med. And Public Health* **30** (1) p177-183

**31. Ware G. W., Whitacre D. M., (2004).** *The Pesticide Book*, 6<sup>th</sup> Ed. *Meister Media Worldwide, Willom (ISBN1892829- 11 -8), pp. 496.*

**32. Wu N., Liao G. H., Li D. F., Luo Y. L., Zhong G. M. (1991).** The advantages of mosquito biocontrol by stocking edible fish in rice paddies. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1991 Sep ;22(3):436-42.

**33. Yaro A., Adamou A., Crawford J. E, Traoré S. F., Touré A. M., Gwadz R. & Lehmann T. (2006).** Reproductive of female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Comparaison of Molecular Forms. *Journal of Medical Entomology*, Vol. 43, Issue 5 (September 2006), pp. 833–839.

**34. Zaim. M, A. Aitio and N. Nakashima, 2000.** Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Medical and Ceterinary Entomology* 14, 1-5.

## **ANNEXES**

### **A. 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 du tube.
- Pour obtenir le culot d'ADN, nous avons centrifugé la suspension à 14000 tours par minute pendant 15 mn pour 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.

## **B. 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.

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

#### **Procédure.**

#### **- Numéroter 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 24 $\mu$ l 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
Mgcl2	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' -GTGTGCCCTTCCTCGATGT- 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 caméra 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*).

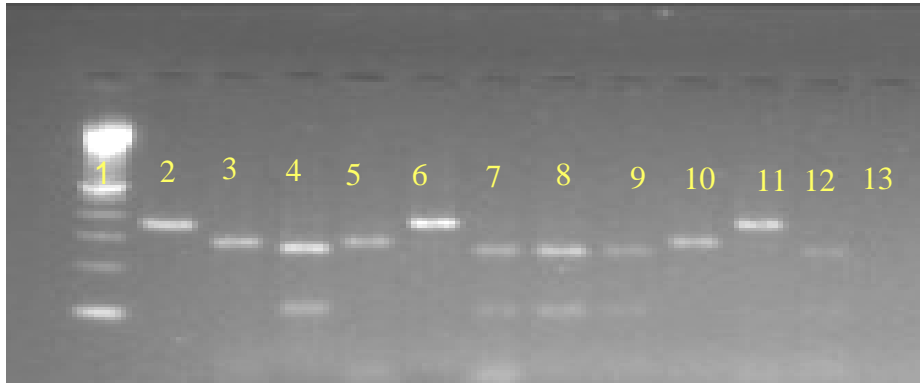


Figure 8: identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

**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.

**D. Fiche de spray-catch**

**CAPTURE DANS LES HABITATIONS HUMAINES**

**LOCALITE:**

**DATE:**

**METHODES DE CAPTURES: *spray catch***

**NOMBRE DE CASES PROSPECTEES**

**Evaluation de l'efficacité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra domiciliaire dans les cercles de Koulikoro et de Bla au Mali**

**Espèces capturées**

N°Case	Type	Propriétaire Case	Nombre de dormeurs	Jeun	Gorgé	Semi-gravide	Gravide	Total.	Chef concession

## **Fiche signalétique**

**Nom :** SOUMARE

**Prénom :** HAROUNA MASSIRE

**Titre :** Evaluation de l'activité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra-domiciliaire dans les cercles de Koulikoro et de Bla

**Année de soutenance :** 2010

**Ville de soutenance :** Bamako

**Pays d'origine :** Mali

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

### **Résumé.**

La présente étude avait pour but d'évaluer l'activité de la lambda-cyhalothrine en pulvérisation intra-domiciliaire dans les cercles de Koulikoro et de Bla.

Il ressort de cette étude que la lambda-cyhalothrine est efficace en pulvérisation intra-domiciliaire après une période de sept mois.

Cependant, après la seconde pulvérisation cette efficacité était faible.

*An. gambiae* s.s. était l'espèce majoritaire rencontrée par rapport à *An. arabiensis* dans tous les sites d'étude. Parmi *An. gambiae* s.s. la fréquence de la forme moléculaire M était plus élevée (93,22) que la forme S (6,78).

Le taux d'inoculation entomologique était nulle après la pulvérisation de 2008 tandis qu'après la pulvérisation de 2009 il était faible à Koulikoro (1,93) et très élevés à Bla (19,8).

Cependant, les moustiques utilisés pour l'évaluation de l'efficacité de la lambda-cyhalothrine étaient issus de l'élevage à l'insectarium (souche Kissumu).

### **SERMENT DE GALIEN**

En présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples, devant l'effigie de Galien, je promets et je jure, au nom de l'être suprême:

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- 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 !**