

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE ET SUPERIEUR

SECRETARIAT GENERAL

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE
DE BOBO-DIOULASSO

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

FORMATION DOCTORALE EN
PARASITOLOGIE MEDICALE



BURKINA FASO
Unité-Progrès-Justice

Année académique 2014-2015

Mémoire N°10

**Evaluation en pré-phase III de l'efficacité d'une peinture
insecticide contre les populations d'*Anopheles gambiae s.l.*
résistantes aux pyréthriinoïdes à la Vallée du Kou, Burkina-Faso.**

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le, 03 Octobre 2014

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

Par

Diloma Dieudonné SOMA

JURY

Président : **M. Tinga Robert GUIGUEMDE**, Professeur Titulaire, INSSA/UPB.

Membres :

- **M. Kounbohr Roch DABIRE**, Directeur de Recherche, IRSS/CNRST (Directeur du mémoire);
- **M^{me}. Florence FOURNET**, Chargée de Recherche, IRD/IRSS, UMR MIGEVEC.

Dédicaces

A mon Père, SOMA Kalifa Paul *in memoriam*

Que Dieu vous accueille dans sa miséricorde. Amen !

A ma Maman chérie, SOMA/SIRIMA B. Joséphine

Ton courage et ton attachement franc à Dieu ont fait de toi une femme équilibrée, une mère adorable, une éducatrice hors pair. Je n'ai jamais été privé de ton amour; tu m'as toujours comblé et malgré la disparition de papa. Merci infiniment, que Dieu te bénisse et te garde encore longtemps à nos côtés !

A mon Oncle SIRIMA T. Romaric

Je suis très reconnaissant du soutien que tu m'as apporté durant mes études universitaires. Tes conseils m'ont été d'un grand secours; aujourd'hui si ce travail existe, c'est grâce à toi cher oncle, merci pour tout. Que Dieu vous accorde santé et longue vie !

A Clarisse, Martine, Pascaline, Olga et Marie Flore Sintiche

Pour les sacrifices consentis à mon égard et les conseils que vous n'avez jamais cessé de me prodiguer. Votre présence constante à mes côtés m'a été d'un intérêt inestimable. Que Dieu renforce davantage notre fraternité et notre solidarité !

*A vous qui prenez des risques pour défendre le faible, l'opprimé !
Je vous dédie ce travail !*

Remerciements

« *Deo gracias !!* »

Ce travail est le fruit de deux belles années d'études universitaires inoubliables. Beaucoup de personnes m'ont soutenu et marqué à différents niveaux. J'aimerais pouvoir les remercier :

Le Professeur Jean-Bosco OUEDRAOGO, Directeur de recherche, Directeur Régional de l'Ouest de l'Institut de Recherche en Science de la Santé (IRSS-DRO), Directeur Régional du Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation (DR-MRSI), pour m'avoir accueilli dans son institut pour cette étude !

Le Professeur Tinga Robert GUIGUEMDE, Professeur titulaire, Doyen et Directeur de l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé (INSSA), éminent spécialiste en parasitologie qu'il enseigne à d'innombrables promotions d'étudiants dont je fais partie. Merci pour la formation reçue à vos côtés. Nous garderons de vous ce sens élevé du travail parfait !

Le Docteur Kounbobr Roch DABIRE, Directeur de recherche, Chef de Département des Maladies Transmissibles du Centre MURAZ » pour m'avoir fait découvrir le monde de la recherche et m'initié à cette belle discipline qu'est **l'entomologie** ! Merci pour m'avoir partagé votre riche culture et vos nombreuses expériences scientifiques, qui m'ont permis d'évoluer et de réaliser ce travail en toute sérénité dans des conditions idéales. Aussi, votre disponibilité, l'amour et le respect que vous portez à l'égard de vos étudiants font de vous une personne aux qualités humaines exceptionnelles, exemplaire et enviable. Travailler sous votre direction a été pour moi un plaisir et un honneur. Merci !

Le Docteur Abdoulaye DIABATE, Maître de recherche, Chef de l'Unité de Recherche « Paludisme et Maladies Tropicales Négligées du Centre MURAZ » pour les différents conseils et encouragements !

Le Docteur Florence FOURNET, Chargée de recherche, merci pour le temps que vous avez consacré à redonner de la rigueur à ma plume en participant à l'élaboration de ce mémoire par vos suggestions et vos conseils et en général pour votre disponibilité et votre générosité. Je crois pouvoir dire sans me tromper que l'on peut compter sur vous Docteur.

Le Docteur Léa PARE/TOE, pour vos soutiens et vos conseils à mon égard !

Le Docteur Moussa NAMOUNTOUGOU, pour son implication dans ce travail. Son intérêt et sa disponibilité ont permis de mener à bien cette étude. Chef merci !

Mention très spéciale, à mes compagnons de terrain, **Georges Benson MEDA** « *spécialiste en dégustation des protéines de moustiques* », **Hamidou TRAORE** « *patron du volant* » et **Serge B. PODA** « *toujours pressé* ». Merci pour tous les bons moments passés en votre présence et pour la bonne ambiance qui régnait sur le terrain !

Les Docteurs Thierry LEFLEVRE, Simon SAWADOGO, Mamai WADAKA, Robert K. OUEDRAOGO, Fabrice SOME, Aristide HIEN, pour leurs conseils, encouragements et suggestions très pertinentes.

Les Docteurs Sanata BAMBA, Ibrahim SANGARE et Mamadou CISSE, pour toutes les connaissances scientifiques que vous m'avez transmises avec amour et pédagogie (*souvent nombreuses et complexes que j'ai fini par aimer avec souplesse et bon goût !*).

Mes grands frères et/ou aînés scientifiques, dont chaque personne, un jour m'a vu arriver avec une question et repartir avec une réponse, en particulier : **Hamidou MAIGA** « *le binguiste !* », **K. Hyacinthe TOE, François D Salle HIEN, Abdoulaye NIANG, Bienvenue YAMEOGO, Abdoul Azize MILLOGO, Séverin NDO, Etienne BILGO, N. Séverin B-SOMDA** « *le sévère !* », **Silvère Dieudonné ZAONGO, Yacouba CISSAO, Koama BAYILI, Joseph BADO, Moussa SYLLA, Nourou BARRY** « *mon soloque !* »...

Ma mamie chérie Natogma Brigitte TRAORE (*pour ces matériels didactiques et surtout ces cafés chauds !*), ma grande sœur **Mme YAMEOGO A. Inès** et **M. TIENDREBEOGO François** pour toutes les formalités administratives qui ont facilité ce travail !

L'ensemble des techniciens de l'IRSS-DRO et du Centre MURAZ (*ma deuxième famille avec qui je passe plus de temps*), mais avec une attention particulière à : **Tonton Sougrinoma ZOUNGRANA** (*Choco !*), **Ali OUARI, Hamidou TRAORE, Hyacinthe GUEL, Sény ILBOUDO, Abdoulrasmané KABRE, Ibrahim DIABATE, Stéphane SOMDA, Hervé SOMDA, Arzouma DIASSO, Abdoulaye OUATTARA, Baudoin DABIRE, tonton Souleymane SANOU, Edouard SANOU, Noufou DIABATE**. Vous avez su me transmettre votre savoir-faire ; j'ai eu un énorme plaisir à partager ces moments formidables avec vous !

Mes promotionnaires de Master : **Roger SANOU, Constant SIRIMA** « *Cousin choco* », **Sourou Abel MILLOGO, Mahamat VAKALAMSOU** « *devenu mon frère* », **Arthur D. DJIBOUGOU, Mamadou DOLO**. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler en votre compagnie !

Un merci particulier à **M. KONATE Yacouba, M. YAMBA Yacouba** et à **Moussa ZOURE** pour toutes leurs aides et leurs encouragements !

Je tiens à remercier toute la **population de la Vallée du Kou**, particulièrement l'équipe des « *captureurs-dormeurs* » de VK 1 pour le travail remarquable qu'ils ont réalisé et pour leur accueil chaleureux au sein de leur village. Mention spéciale à **Souleymane SANOU**, notre guide infatigable toujours présent aux moments opportuns, *Kabarka, Aniché !*

Chacune des pages de ce travail porte en elle vos empreintes.

Recevez ici, toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance !

Ce travail a bénéficié du soutien financier du projet « *Peinture* » fruit d'une collaboration entre l'Université de Valence, l'Institut de Recherche en Science de la Santé/Centre Muraz et le MIVEGEC sur financement de la Coopération Espagnole.

*« J'essaie toujours de faire ce que je ne sais pas faire, c'est ainsi
que j'espère apprendre à le faire. »
P. Picasso*

Résumé

Evaluation en pré-phase III de l'efficacité d'une peinture insecticide contre les populations d'*Anopheles gambiae s.l.* résistantes aux pyréthrinoïdes à la Vallée du Kou, Burkina Faso.

De nos jours, la lutte antivectorielle est confrontée à l'émergence de la résistance des vecteurs aux insecticides et à des difficultés opérationnelles sur le terrain. Il s'avère nécessaire de rechercher des solutions alternatives et innovantes pour une meilleure gestion des populations de vecteurs résistants aux insecticides. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité entomologique d'une peinture insecticide en zone de résistance d'*An. gambiae s.l.* aux pyréthrinoïdes. Cette peinture insecticide est composée de deux organophosphorés et d'un inhibiteur de croissance. Elle a été appliquée en une ou deux couches sur les murs et/ou sur les plafonds. L'évaluation a consisté à mesurer et à comparer les paramètres entomologiques suivants entre les traitements: i) l'efficacité de la peinture par les captures en faune résiduelle, ii) la rémanence de cette efficacité grâce aux tests cônes OMS assurés avec la souche sensible «Kisumu» d'*An. gambiae* et la souche «sauvage» résistante aux pyréthrinoïdes et iii) le diagnostic des gènes de résistance. Les résultats obtenus après six mois d'application montrent que le produit reste très rémanent et efficace avec 98 à 100% de mortalité. Les collectes matinales réalisées tous les mois indiquent que tous les moustiques collectés ont été tués par la peinture (100% de mortalité) de Juin à Décembre 2013. La fréquence globale de la mutation *kdr-L1014F*, principal mécanisme de résistance d'*An. gambiae s.l.* aux pyréthrinoïdes a été très élevée avec 98%, confirmant le statut de résistance qui a été observé dans ce faciès. Celle de l'*Ace-1^R* était inférieure à 2%. Ces fréquences ne différaient pas entre les maisons témoins et les maisons traitées, confirmant que cette peinture ne sélectionne pas de résistance à ces deux classes d'insecticides. Les résultats montrent que cette peinture est très efficace pour contrôler les populations résistantes d'*An. gambiae s.l.* De plus, son application ne requiert pas de personnel qualifiés ni d'équipements spéciaux. Ces atouts en font un outil qui pourrait être utilisé de façon intégrée contre les vecteurs résistants aux pyréthrinoïdes et aux carbamates. Il serait donc intéressant d'évaluer à l'échelle communautaire l'efficacité de cette peinture et son acceptabilité par la population.

Mots-clés: peinture insecticide, *Anopheles gambiae s.l.*, efficacité, Burkina Faso.

Abstract

Evaluating the efficacy of insecticide paint against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae s.l.* in Vallée du Kou, Burkina Faso.

Vector control is currently challenged by the quick spread of insecticide resistance among mosquito and operational difficulties on the field. Thus, it is necessary to find alternative and innovative strategies to better adapt effective control. In the current study we evaluated the efficacy of organophosphate-combined paint containing insect growth regulator in indoor application on the walls and/or ceiling in Vallée du Kou where *An. gambiae* are resistant to pyrethroids. The main entomological parameters such as mortality rates and paint insecticidal residual efficacy were compared between treated and untreated huts. The residual insecticidal efficacy of the paint tested both with the susceptible *An. gambiae* “Kisumu” and wild local populations of *An. gambiae s.l.* showed high mortality rates ranging between 98 to 100% six months after the treatment. The indoor collections of wild *An. gambiae* performed during four consecutive days per month from June to December 2013 revealed that all mosquitoes entering in the paint-treated houses were died (i.e 100% mortality rates throughout the six months collection). The frequency of *kdr-L1014F* (98%) mutation which was high in this area did not differ between treatments. That of the *Ace-1^R* remained less than 2% and did not differ among the treatment. These results are very promising in terms of new perspectives to control resistant malaria vectors. In contrast to the classic indoor sprays, this tool is very simple and does not require any special equipment or qualified personnel. But a large-scale assay is required to address its impacts on malaria transmission and the perception and acceptability of targeted human communities.

Key-words: insecticide paint, *Anopheles gambiae s.l.*, efficacy, Burkina Faso.

Sommaire

Résumé	v
Abstract.....	vi
Sommaire	vii
Liste des abréviations et sigles	ix
Liste des figures	xi
Liste des tableaux	xi
Liste des annexes	xi
I- INTRODUCTION.....	- 1 -
II- GENERALITES	- 3 -
2.1. Les vecteurs du paludisme en Afrique	- 3 -
2.1.1. Le complexe <i>gambiae</i>	- 3 -
2.2. Le cycle de développement des anophèles.....	- 4 -
2.3. La lutte anti-vectorielle.....	- 6 -
2.3.1. La lutte anti-larvaire	- 6 -
2.3.2. Les méthodes de lutte contre les stades adultes.....	- 7 -
2.3.3. Les classes d'insecticides utilisés en lutte anti-vectorielle	- 9 -
2.4. La résistance des vecteurs aux insecticides et leurs mécanismes d'action	- 11 -
2.4.1. La résistance métabolique	- 11 -
2.4.2. La résistance liée à la modification de la cible	- 12 -
2.4.3. La résistance comportementale	- 13 -
2.4.4. La résistance cuticulaire	- 13 -
III- MATERIEL ET METHODES	- 15 -
3.1. Le site d'étude.....	- 15 -
3.2. Présentation de la peinture insecticide Inesfly®-5A IGR.....	- 16 -
3.3. Les configurations de l'étude (design expérimental).....	- 16 -
3.3.1. Les maisons témoins (n=4 maisons)	- 16 -
3.3.2. Les maisons traitées (n=12 maisons)	- 16 -
3.3.3. Estimation du prix d'achat de la peinture insecticide utilisée	- 17 -
3.4. Les travaux de terrain	- 17 -
3.4.1. La collecte des moustiques dans les maisons traitées et témoins	- 17 -
3.4.2. L'évaluation de la rémanence de la peinture insecticide	- 18 -
3.5. Les analyses au laboratoire	- 18 -
3.5.1. Les tests de sensibilité aux insecticides.....	- 18 -
3.5.2. Les analyses moléculaires	- 19 -
3.6. Les analyses statistiques et le traitement des données	- 20 -
3.7. Les considérations éthiques.....	- 20 -

IV- RESULTATS	- 21 -
4.1. Le taux d'entrée et l'effet dissuasif	- 21 -
4.2. Le taux de mortalité	- 22 -
4.3. La rémanence de la peinture insecticide	- 24 -
4.4. La sensibilité d'<i>An. gambiae s.l.</i> aux insecticides	- 24 -
4.5. Les analyses moléculaires	- 25 -
4.5.1. La composition spécifique d' <i>An. gambiae s.l.</i> à VK 1	- 25 -
4.5.2. La distribution des gènes de résistance chez les populations <i>An. coluzzii</i>	- 27 -
V- DISCUSSION	- 30 -
5.1. Le taux d'entrée des moustiques et l'effet dissuasif	- 30 -
5.2. L'efficacité et la rémanence de la peinture insecticide	- 30 -
5.3. La sensibilité des vecteurs aux insecticides	- 30 -
5.4. La composition de la faune vectrice	- 31 -
5.5. La distribution des gènes de résistance	- 31 -
VI- CONCLUSION ET PERSPECTIVES	- 33 -
VII- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 34 -
VIII- ANNEXES	I

Liste des abréviations et sigles

Ace-1 : Acétylcholinestérase Insensible

AChE : Acétylcholinestérase

ADN : Acide désoxyribo nucléique

al : Collaborateurs

An.: *Anopheles*

Bendio : Bendiocarb

CaCO₃ : Carbonate de Calcium

CFR : Capture en Faune Résiduelle

CIDIEM : *Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Medicas*

COE : Carboxyl-Estérases

CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

CX : Carbamate

CYP : Mono-oxygénase à Cytochrome P450

DDT : Dichloro diphényl trichloroéthane

Féni : fénitrothion

GABA : Gamma-Amino-Butyric Acid

GST: Glutation S-transférase

IGR : Insect Growth Regulator

INSD : Institut National de la Statistique et de la Démographie

IRSS : Institut de Recherche en Science de la Santé

Kd : *knockdown*

Kdr : *Knockdown resistance*

LAV : Lutte Anti-Vectorielle

MCHIP : Maternal and Child Health Integrated Program

MII : Moustiquaires Imprégnées Insecticides

MILDA : Moustiquaires Impregnées à Longue Durée d'Action

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OP : Organophosphoré

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

Perm: Perméthrine

PID : Pulvérisation Indra Domiciliaire

PM : Pyrimiphos Methyl

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

PPI/1CM : Peinture simple + Peinture Insecticide 1 couche sur murs

PPI/1CMP : Peinture simple + Peinture Insecticide 1 couche sur murs et plafond

PI/1CM : Peinture Insecticide 1 couche sur murs

PI/1CMP : Peinture Insecticide 1 couche sur murs et plafond

PI/2CM : Peinture Insecticide 2 couches sur murs

PI/1CMP : Peinture Insecticide 2 couches sur murs et plafond

PY : Pyréthrinoides

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

RR : Homozygote résistant

RS : Hétérozygote

s.l. : *sensus lato*

SS : Homozygote sensible

s.s. : *sensus stricto*

UEMOA : Union Economique et Monétaire Ouest Africaine

USAID : United States Agency for International Development

VK : Vallée du Kou

WHO : World Health Organization

Liste des figures

Figure 1 : Cycle de développement des anophèles	- 5 -
Figure 2 : Localisation de la zone d'étude.	- 15 -
Figure 3: Présentation de la peinture insecticide Inesfly®-5A IGR	- 16 -
Figure 4: Différentes étapes du test de sensibilité en tube OMS (WHO, 1998)	- 19 -
Figure 5 : Comparaison des effets dissuasifs globaux induits par les traitements contre <i>An. gambiae s.l.</i>	- 22 -
Figure 6 : Taux de mortalité obtenu avec les populations sauvages d' <i>An. gambiae s.l.</i>	- 23 -
Figure 7 : Proportion d' <i>An. gambiae s.l.</i> collectés morts ou vivants (A), gorgés (B) et à jeun (C)	- 23 -
Figure 8 : Taux de mortalité d' <i>An. gambiae</i> « <i>Kisumu</i> » et « <i>sauvage</i> » de la VK 1	- 24 -
Figure 9: Sensibilité d' <i>An. gambiae s.l.</i> VK 1 aux insecticides.....	- 25 -

Liste des tableaux

Tableau I : Effet dissuasif (déterrent) induit par les traitements contre <i>An. gambiae s.l.</i>	- 21 -
Tableau II: Composition spécifique d' <i>An. gambiae s.l.</i> à VK 1	- 26 -
Tableau III : Distribution de la fréquence des mutations <i>kdr L1014F</i> chez <i>An. coluzzii</i>	- 28 -

Liste des annexes

Annexe 1: Protocole d'extraction d'ADN au CTAB 2%.....	I
Annexe 2 : Détection du gène SINE 200X 6.1 <i>locus</i>	II
Annexe 3 : Diagnostic de la mutation <i>kdr</i> de l'Afrique de l'Ouest	III
Annexe 4 : Diagnostic de la mutation <i>Ace-1</i> chez <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	IV

I- INTRODUCTION

Les arthropodes sont responsables de la transmission de la quasi-totalité des maladies vectorielles dont le paludisme, la dengue, le chikungunya, la fièvre jaune, les filarioses lymphatiques figurent parmi les redoutables pathologies auxquelles l'homme fait face (OMS, 2013). Les Culicidés constituent les principaux vecteurs qui appartiennent aux genres *Anopheles*, *Aedes* et *Culex* (Weaver *et al.*, 2011). De toutes ces maladies vectorielles, le paludisme est la plus répandue au monde surtout dans les zones tropicales, avec 207 millions de personnes malades et 627 000 décès enregistrés en 2012. Environ 80% des cas cliniques surviennent en Afrique subsaharienne où les enfants de moins de cinq (5) ans et les femmes enceintes sont les plus touchés (OMS, 2013).

Au Burkina Faso, le paludisme demeure un problème majeur de santé publique par son ampleur et sa gravité. Il constitue la première cause de consultation et de mortalité dans les structures de santé, soit 45,4% des motifs de consultations et 87,9% des causes de décès (MCHIP/USAID/PNLP, 2013).

De nos jours, la lutte contre le paludisme passe par deux stratégies majeures : le traitement antipaludique et la prévention par la chimioprophylaxie et la lutte antivectorielle (LAV) qui constitue le maillon essentiel de la prévention. La stratégie actuelle de la LAV repose sur l'utilisation des insecticides en Pulvérisation Intra-Domiciliaire (PID) et les Moustiquaires Imprégnées à Longue Durée d'Action (MILDA). Cependant, la résistance des vecteurs aux insecticides surtout d'*An. gambiae s.l.* aux pyréthrinoïdes (principaux insecticides utilisés pour imprégnation des MILDA) pourrait compromettre la réussite de cette stratégie.

En effet, décrite pour la première fois en 1993 en Côte d'Ivoire, la résistance d'*An. gambiae s.l.* aux insecticides s'est généralisée à toutes les classes d'insecticides atteignant des niveaux très élevés (Diabaté *et al.*, 2004; N'Guessan *et al.*, 2007; Dabiré *et al.*, 2008, 2012b; Rowland *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2014; Strode *et al.*, 2014). Ainsi, on note une augmentation des fréquences alléliques des mutations *kdr* L1014F et *ace-1^R* (Dabiré *et al.*, 2009a&b) avec ces cinq dernières années une extension géographique très poussée vers de nouvelles zones cotonnières et maraîchères d'Afrique de l'Ouest jadis exemptes de résistance (Dabiré *et al.*, 2012a). En plus, la LAV est confortée à des difficultés sur le plan opérationnel: distribution, utilisation incorrecte, accessibilité, acceptabilité, perception des outils de lutte selon les couches socio-économiques et culturelles (Toé *et al.*, 2009; Wai *et al.*, 2014). Il

apparaît urgent d'améliorer et/ou d'élaborer de nouveaux outils alternatifs et innovants pour un meilleur contrôle de ces vecteurs du paludisme (Enayati *et al.*, 2009). Ainsi, la recherche d'insecticides de remplacement ou de nouvelles formulations des insecticides existants est devenue une priorité en LAV (OMS, 2013).

L'une des stratégies prometteuses visant à prévenir ou à retarder l'évolution de la résistance des vecteurs aux insecticides est l'association de molécules de familles différentes réunies en une seule formulation tel que présentée dans la peinture insecticide Inesfly®-5A IGR. Cette peinture insecticide est composée d'organophosphorés et d'un régulateur de croissance d'insecte. Plusieurs études ont démontré son efficacité au laboratoire en phase I et dans les cases expérimentales en phase II contre *An. gambiae* et *Culex quinquefasciatus* au Bénin (Mosqueira *et al.*, 2010a&b). En plus, elle a aussi montré une bonne tolérance par les populations qui en sont exposées (CIDIEM, 2003). Afin de connaître son efficacité en condition réelle d'utilisation, nous avons entrepris cette étude en adoptant une phase II en milieu réel (pré-phase III).

L'objectif général de cette étude est d'évaluer l'efficacité et la rémanence de la peinture insecticide Inesfly® dans un contexte de multi-résistance d'*An. gambiae s.l.* aux pyréthriinoïdes.

De façon spécifique d'évaluer les paramètres entomologiques suivants :

- déterminer l'efficacité de la peinture insecticide par le taux de mortalité induit dans les maisons traitées ;
- déterminer la rémanence de la formulation de la peinture insecticide;
- estimer sa capacité à sélectionner la résistance des vecteurs (*An. gambiae s.l.* aux OP).

II- GENERALITES

2.1. Les vecteurs du paludisme en Afrique

Les vecteurs du paludisme appartiennent au :

- Règne : *Animalia* ;
- *Phylum* : *Arthropoda* ;
- Classe : *Insecta* ;
- Ordre : *Diptera* ;
- Famille : *Culicidae* ;
- Sous-famille : *Anophelinae* ;
- Genre : *Anopheles*.

Ce genre est l'un des plus importants en termes de santé publique et compte dans le monde plus de 400 espèces dont environ 60 sont capables de transmettre les *Plasmodium* humains (Bruce-Chwatt, 1987 ; Carnevale & Robert, 2009).

2.1.1. Le complexe *gambiae*

Le complexe *gambiae* a fait l'objet de plusieurs études en Afrique à cause de son importance dans la transmission du paludisme. Il comprend deux vecteurs majeurs du paludisme en Afrique : *An. gambiae s.s.* et *An. arabiensis*. Ce complexe est composé d'espèces jumelles morphologiquement identiques, mais présentant souvent des différences dans la morphologie des œufs ou des stades larvaires (White, 1974; Hunt *et al.*, 1998; della Torre *et al.*, 2001; Fontenille *et al.*, 2003). Il comprend :

- *Anopheles gambiae s.s.* Giles, 1902 ;
- *Anopheles arabiensis*, Patton, 1904 ;
- *Anopheles melas*, Theobald, 1903 ;
- *Anopheles merus*, Doenitz, 1902 ;
- *Anopheles bwambae*, White, 1985 ;
- *Anopheles quadriannulatus* A, Theobald, 1911 ;
- *Anopheles quadriannulatus* B. Hunt *et al.*, 1998.

Chez *An. gambiae* s.s. cinq formes chromosomiques ont été identifiées en Afrique de l'Ouest: *Savanna*, *Mopti*, *Bamako*, *Bissau* et *Forêt* (Coluzzi *et al.*, 1985). Le génotypage de l'ADN ribosomal du chromosome X réalisé sur les formes chromosomiques *Mopti* et *Savanna* présents au Mali et au Burkina Faso, a mis en évidence deux sites polymorphes dans les fragments intergéniques de l'ADN ribosomal (Flavia *et al.*, 2001; della Torre *et al.*, 2001, 2002). Ces deux sites ont permis de différencier, les formes moléculaires M pour *Mopti* et S pour *Savanna*. Les formes moléculaires M et S vivent souvent en sympatrie en proportions variables selon les conditions climatiques et écologiques du milieu (della Torre *et al.*, 2005). Récemment en conformité avec le comité international de nomenclature zoologique, la forme moléculaire M a été nommée *Anopheles coluzzii* en l'honneur du regretté Professeur Mario Coluzzi qui a consacré une grande partie de sa vie à l'étude de ce complexe d'espèces en Afrique de l'Ouest et la forme S devenue *Anopheles gambiae* (Coetzee *et al.*, 2013).

En Afrique tropicale, les principaux vecteurs responsables de la transmission du paludisme humain sont : *Anopheles gambiae*, *Anopheles coluzzii*, *Anopheles arabiensis* et *Anopheles funestus* considérés comme des vecteurs majeurs en fonction des régions géographiques (Hunt *et al.*, 1998 ; Cohuet *et al.*, 2004). En plus de ces vecteurs majeurs, on trouve des vecteurs secondaires ou locaux rencontrés surtout sur le littoral et le milieu insulaire tels qu'*Anopheles mascarensis* à Madagascar (LeGoff *et al.*, 2003 ; Ravoahangimalala *et al.*, 2003), *Anopheles melus* sur les côtes lagunaires d'Afrique de l'Ouest, *Anopheles merus* sur la côte d'Afrique de l'Est. Ces deux derniers vecteurs (*An. melas* et *An. merus*) sont devenu des vecteurs majeurs (Sinka *et al.*, 2010).

Au Burkina Faso, quatre vecteurs transmettent la quasi-totalité des *Plasmodium* humains: *An. gambiae*, *An. coluzzii*, *An. arabiensis*, *An. nili* et *An. funestus* (Robert *et al.*, 1985; Diabaté, 2003). Le rôle d'*An. funestus* s.s. dans la transmission du paludisme est plus prépondérant dans les régions Ouest du pays où il prend le relais à *An. gambiae* et *An. coluzzii* vers la fin de la saison des pluies (Dabiré *et al.*, 2007, 2008).

2.2. Le cycle de développement des anophèles

Les anophèles sont des insectes holométaboles. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique, une courte phase nymphale avant le stade adulte aérien (Figure 1)

(Clements, 1992). En général, la femelle anophèle s'accouple une seule fois avec le mâle et conserve le sperme dans la spermathèque tout au long de sa vie pour féconder les ovules. Seules les femelles sont hématophages. Elles prennent un ou plusieurs repas de sang pour la maturation des œufs et après trois jours environ, elles pondent à la surface de l'eau. Ces œufs sont de forme plus ou moins ovoïde et pourvus latéralement de flotteurs, leur permettant de conserver une position horizontale à la surface de l'eau. Dans les conditions favorables, les œufs éclosent en deux jours donnant des larves qui s'alimentent de particules organiques présentes dans l'eau du gîte. Chaque larve subit quatre mues consécutives pour donner la *nymphe* au bout de huit à dix jours. La durée du développement larvaire varie selon les espèces, la température du milieu, la densité larvaire et de la disponibilité en nourriture. Au stade nymphal, la larve subit de profonds changements lui permettant de passer d'une vie aquatique à une vie aérienne et d'atteindre son développement maximum. Au cours de ce stade qui dure en moyenne 2 jours, la nymphe cesse de se nourrir (Clements, 1992). Une fois la métamorphose accomplie, les moustiques mâles émergent en premier à la surface de l'eau, suivis des femelles 24 à 48 heures après. Les adultes se nourrissent de glucides généralement trouvés dans les nectars végétaux.

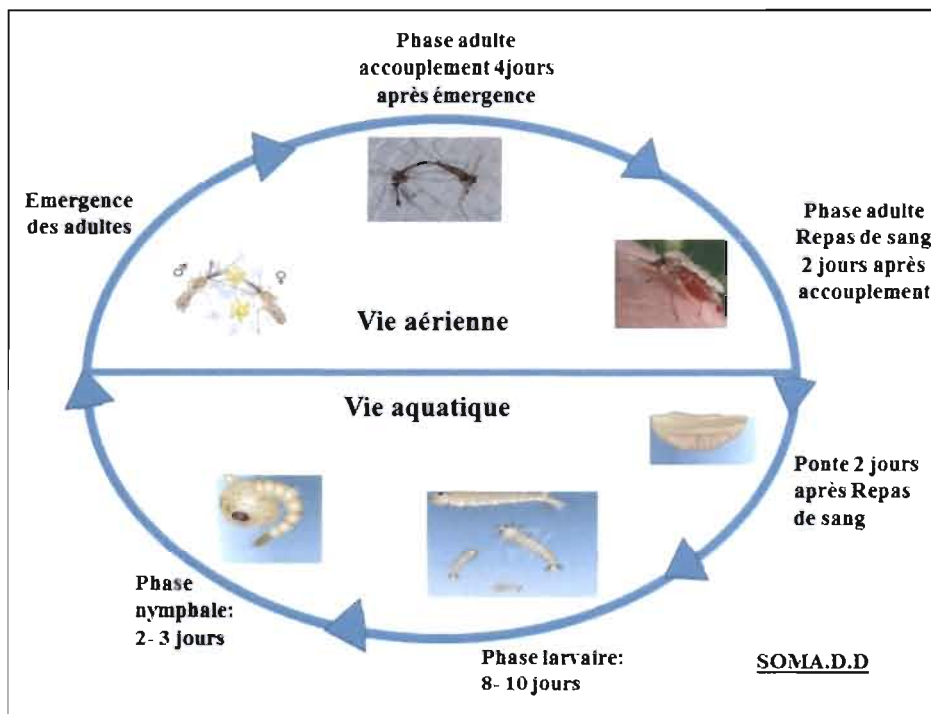


Figure 1 : Cycle de développement des anophèles

2.3. La lutte anti-vectorielle

La lutte anti-vectorielle est un élément essentiel de la stratégie de lutte contre le paludisme. Il est prouvé que les interventions de lutte anti-vectorielle permettent de réduire ou d'interrompre la transmission de la maladie, en particulier dans les zones très exposées au paludisme (OMS, 2013). Elle peut cibler les stades larvaires ou les adultes.

2.3.1. La lutte anti-larvaire

La lutte contre les larves requiert une bonne connaissance de la biologie du vecteur (conditions, lieu, période de développement...). Elle comprend trois composantes principales :

2.3.1.1. La lutte physique ou mécanique

Elle vise à détruire les gîtes larvaires réels ou potentiels des anophèles par l'aménagement de l'environnement grâce à l'assainissement autour des habitations (protection individuelle et familiale), l'irrigation intermittente ou le drainage des eaux stagnantes.

2.3.1.2. La lutte chimique

Cette lutte consiste à faire des traitements larvicides sur des eaux de surface. Les larvicides doivent être sélectifs. Le téméphos (OP) est le principal larvicide utilisé en raison de sa faible toxicité pour la faune non cible (Carnevale & Mouchet, 1990). Des études récentes ont montré des activités larvicides à partir d'extraits de plantes (*Clausena dentata*, *Tithonia diversifolia*, *Ricinus communis*) qui pourraient être utilisés contre les vecteurs du paludisme (Manjari *et al.*, 2014 ; Wachira *et al.*, 2014).

2.3.1.3. La lutte biologique

La lutte biologique consiste en l'introduction de parasites, de bactéries, champignons entomopathogènes ou de prédateurs des larves (poissons larvivores) du vecteur dans les gîtes larvaires. Des bio larvicides de principes actifs, *Bacillus sphaericus* cep 2362 et *Bacillus thuringiensis*, variété *israelensis* ont été testés en 2012 et en 2013 à Ouagadougou, choisie comme ville pilote par l'Union Economique et Monétaire Ouest Africaine (UEMOA) contre les larves de moustiques (Sidwaya.bf/quotidien N° 7536 du 6/11/2013 ; revistas.labiofamcuba.com).

La lutte anti-larvaire n'est efficace que si les gîtes larvaires sont limités en nombre, facilement identifiables et accessibles. Ce qui n'est pas généralement le cas, surtout pour les principaux vecteurs du paludisme en Afrique, dont les gîtes larvaires sont souvent de petites tailles, nombreux et disséminés.

2.3.2. Les méthodes de lutte contre les stades adultes

2.3.2.1. La pulvérisation intra-domiciliaire et les matériaux imprégnés d'insecticides

Elle est basée sur l'utilisation d'insecticides contre les populations de vecteurs. Elle est utilisée principalement en pulvérisation intra-domiciliaire (PID) et sur des matériaux imprégnés d'insecticides (bâches en plastique, MILDA, etc). Cette stratégie vise à réduire le contact homme-vecteur, la densité des vecteurs et leur longévité en vue de diminuer la transmission du paludisme. L'approche par les PID, présente cependant des limites du fait des échecs des opérations pilotes du programme d'éradication du paludisme des années 50 par les PID à base de DDT (Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane) (Rugemalila *et al.*, 2006). Ainsi dans les années 80, les moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII) apparaissent comme mesure de protection au Burkina Faso (Carnavale *et al.*, 1988 ; Darriet, 1991) à l'échelle individuel et communautaire. Mais cela nécessite une couverture d'au moins 80%, des moustiques sensibles aux composés chimiques utilisés. Le problème lié à l'acceptabilité et à l'utilisation réelle de ces MII par la population surtout en zone rurale et l'apparition de la résistance aux insecticides pourraient être aussi un facteur limitant à la réussite des programmes de lutte basée sur cette stratégie (Tchinda *et al.*, 2012 ; Chang *et al.*, 2014).

2.3.2.2. Les répulsifs, les aérosols et les tortillons insectifuges

➤ Les répulsifs

Ils existent sous forme de crème, de lotion ou de spray qui peuvent être appliqués directement sur la peau ou sur les vêtements. L'utilisation de répulsifs est surtout utile pour les gens qui se trouvent à l'extérieur pendant les pics d'activité des vecteurs. Ils sont composés de substances actives (naturelles ou synthétiques) qui tiennent les moustiques à distance par un effet aérien. Il existe de nombreux produits sur le marché : le DEET

(diéthyltoluamide) le EHD (éthylhexanédiol), le DMP (diméthylphtalate) et des huiles de citronnelle, de neem, de java, de ceylan) (Carnevale & Robert, 2009). La plupart des répulsifs ont une durée d'action très courte, huit heures environ (Pages *et al.*, 2007).

➤ **Les aérosols**

Ils sont des insecticides à effet non rémanent utilisés sous forme de spray par les ménages avec pour première intention de lutter contre la nuisance culicidienne et contre les insectes domestiques (cafards) pour une meilleure hygiène familiale. Ils sont très utilisés dans les pays en voies de développement sous plusieurs formulations (Namountougou, 2013).

➤ **Les tortillons insectifuges**

Ils sont très populaires et largement utilisés comme insecticides vaporisés par la chaleur. Une fois allumés, les spirales brûlent lentement et régulièrement pendant 6 à 8 heures, libérant l'insecticide dans l'air qui tue ou retient les moustiques à distance. Ces produits sont énormément répandus dans les pays en voies de développement car ils sont accessibles et bon marché. Toutefois, de grandes différences sont observées entre les différents produits (Carnevale & Robert, 2009).

2.3.2.3. La lutte génétique

La lutte génétique vise à réduire la capacité vectorielle en réduisant le potentiel reproductif d'une population de vecteur ou en rendant les populations de vecteurs incapables de transmettre le *Plasmodium*. Les méthodes de lutte génétiques contre les vecteurs sont basées sur deux stratégies (Alphey *et al.*, 2002). La première consiste à concevoir des vecteurs avec un phénotype modifié et à les introduire dans la population sauvage. Ce nouveau phénotype se propage de génération en génération et est défavorable à la survie de l'espèce. L'autre approche consiste à réduire le nombre de vecteurs en relâchant dans l'environnement des mâles stériles (Alphey *et al.*, 2010) ou porteurs d'un gène dominant létal qui conduit à une descendance non viable (Thomas *et al.*, 2000).

Par ailleurs, cette induction de la stérilité sexuelle peut se faire par irradiation ou par utilisation de produits chimiques (Fontenille & Simard, 2004; Catteruccia *et al.*, 2009).

En matière de lutte contre les vecteurs du paludisme, ces méthodes sont encore en phase d'essai (Lees *et al.*, 2014).

2.3.3. Les classes d'insecticides utilisés en lutte anti-vectorielle

2.3.3.1. Les organochlorés

Les organochlorés sont des molécules très rémanentes. Ce groupe comprend le Dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT) et ses analogues, le lindane et les cyclodiènes (dieldrine, endosulfan). Le DDT agit à la fois sur le système nerveux central et périphérique du moustique (Hassal *et al.*, 1990) par contact ou ingestion entraînant une perturbation des canaux calcium/magnésium et sodium/potassium le long de l'axone. Le lindane et les cyclodiènes agissent sur le système nerveux central en inhibant les canaux chlorures, récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) qui joue le rôle de neuromédiateur inhibiteur (Matsumura & Clark, 1985).

2.3.3.2. Les organophosphorés

Les organophosphorés sont des dérivés de l'acide phosphoriques. Ils sont de bons neurotoxiques inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Eldefrawi *et al.*, 1976). Ces molécules (actives après oxydation) se fixent sur l'acétylcholinestérase entraînant une accumulation d'acétylcholine dans la jonction synaptique. Lorsqu'ils sont présents en très forte concentration, les récepteurs de l'acétylcholine se bloquent en position ouverte, entraînant la paralysie puis la mort de l'insecte. Les organophosphorés ont une grande efficacité, notamment contre les insectes. Parmi ces insecticides, on peut citer : le parathion, le malathion, le fénitrothion, le chlorpyriphos, le diazinon etc.

2.3.3.3. Les carbamates

Les carbamates sont des dérivés de l'acide carbamique. Ils inhibent l'acétylcholinestérase, l'enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine après la transmission de l'information par ce neurotransmetteur. Contrairement aux organophosphorés, les carbamates sont des insecticides de contact et agissent directement sans oxydation préalable. Ils sont moins utilisés en santé publique à cause de leur coût de production et leur toxicité souvent très élevée vis-à-vis des mammifères (Eldefrawi *et al.*, 1976).

De nos jours, le bendiocarb fait partie des insecticides les plus utilisés en pulvérisation intradomiciliaire comme alternative aux pyréthriinoïdes. Au Burkina Faso, depuis 2010 le

bendiocarb est utilisé dans un site pilote dans le Sud-Ouest du pays, dans le district sanitaire de Diébougou.

2.3.3.4. Les pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des modulateurs des canaux sodium voltage-dépendants qui sont à l'origine de la phase de dépolarisation des potentiels d'action. Les pyréthriinoïdes sont des insecticides de contact dits de « troisième génération ». Ils ont été classés en deux groupes selon leur structure chimique et leur mode d'action. Les pyréthriinoïdes de type II ralentissent plus longtemps l'inactivation des canaux sodium que ceux de type I. Les pyréthriinoïdes de type I (perméthrine) inactivent les canaux pour provoquer une activité répétitive alors que ceux de type II (deltaméthrine, lambda-cyhalothrine) la prolongent sur des périodes suffisamment longues pour que la membrane se dépolarise. Cette dépolarisation cause la perte de l'excitabilité neuronale (Shafer *et al.*, 2005). Cette action neurotoxique provoque une transmission répétée ou continue de l'influx nerveux, qui aboutit à des convulsions puis à la tétanie de l'insecte. Les pyréthriinoïdes sont les seuls insecticides recommandés pour l'imprégnation des moustiquaires en raison de leur rapidité d'action à faible dose (effet *knock-down* ou *Kd*), leur effet excito-répulsif et leur innocuité pour l'homme (Zaim *et al.*, 2000).

A l'interdiction du DDT Dans les années 70, à cause l'apparition de la résistance, l'utilisation du DDT dans les PID fut stoppée à l'exception de quelques pays en Afrique de l'Est et Australe (Mabaso *et al.*, 2004). Désormais la pulvérisation intra-domiciliaire utilise les organophosphorés et les pyréthriinoïdes quoique l'utilisation du DDT est encore tolérée par l'OMS en traitement domiciliaire dans certains contextes, comme à Madagascar lors de l'épidémie de 1988 (Mouchet *et al.*, 1997).

2.3.3.5. Les autres insecticides

2.3.3.5.1. Les bio-larvicides

Ce sont des toxines provenant de microorganismes tels que *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus*. Ces deux bactéries produisent des toxines qui résistent assez bien à un stockage prolongé même en milieu tropical et ne deviennent efficaces que lorsqu'elles sont ingérées, n'ont aucun effet par contact et sont très sélectives (revistas.labiofamcuba.com).

2.3.3.5.2. Les régulateurs de croissance d'insectes

Les régulateurs de croissance sont des analogues d'hormones d'insectes. Ils sont répartis en deux groupes (Gentilini, 1986) :

➤ Les juvénoïdes

Ceux sont des analogues de l'hormone juvénile. Ils sont actifs sur les derniers stades larvaires (L3 et L4) et inhibent la nymphose (empêchent le développement des larves en pupes viables). Ils limitent également l'éclosion des œufs. Les juvénoïdes les plus utilisés sont le méthoprène et le pyriproyfen (régulateur de croissance d'insecte dans la peinture insecticide Inesfly®-5A IGR).

➤ Les ecdysoïdes

Ils inhibent la formation de l'exosquelette (synthèse de la chitine) de la larve après mue et sont actifs sur tous les stades larvaires. L'ecdysoïde le plus utilisé en santé publique est le diflubenzuron.

2.4. La résistance des vecteurs aux insecticides et leurs mécanismes d'action

2.4.1. La résistance métabolique

La résistance métabolique se traduit par une augmentation du métabolisme des insecticides, généralement par des familles d'enzymes à large spectre de substrat. Cette augmentation se traduit par une diminution de la quantité d'insecticide atteignant la cible et donc à une augmentation de la tolérance de l'insecte. Chez les moustiques, trois grandes familles d'enzymes de détoxification sont fréquemment impliquées dans la résistance aux insecticides: les mono-oxygénases à cytochrome P450 (CYP), les glutathion S-transférases (GST) et les carboxyl-estérases (COE) (Hemingway *et al.*, 2004). Ces enzymes sont surproduites ou modifiées chez les moustiques résistants par rapport aux moustiques sensibles permettant ainsi un métabolisme ou une dégradation rapide des molécules d'insecticides avant qu'elles n'exercent leur effet toxique (Hemingway *et al.*, 2004).

De nos jours, un outil performant existe, le « whole-genome microarray » qui est utilisé dans la recherche de gènes candidats qui pourraient être associés à cette résistance métabolique (Muller *et al.*, 2008b ; Ayres *et al.*, 2011 ; Jones *et al.*, 2012). Récemment il a été montré que l'association de la mutation *kdr* L1014F avec une nouvelle mutation dénommée mutation N1575Y augmenterait le niveau de résistance chez des populations d'*An. gambiae*

s.l. (Jones *et al.*, 2011). Cette mutation N1575Y a été reportée chez *An. gambiae* et *An. coluzzii*. dans le Sud-Ouest du Burkina Faso où les deux mutations *kdr* L1014F et L1014S sont déjà observées (Dabiré *et al.*, 2012a ; Badolo *et al.*, 2012 ; Jones *et al.*, 2012).

2.4.2. La résistance liée à la modification de la cible

La résistance liée à la modification d'une cible s'explique par la substitution d'un ou de plusieurs acide (s) aminé (s) dans la séquence de la protéine cible suite à une mutation non synonyme (French-Constant *et al.*, 2004). Ce sont des mécanismes conférant une résistance croisée à tous les insecticides agissant sur la même cible.

2.4.2.1. Les mutations *kdr* L1014F & L1014S

Le canal à sodium voltage dépendant est la cible des pyréthriinoïdes et du DDT. La fixation de l'insecticide sur le canal entraîne son ouverture et une hyperexcitation neuronale se traduisant par un phénomène de paralysie de l'insecte (effet « *knock down* ») qui peut conduire à sa mort. Chez les moustiques, plusieurs mutations de ce gène (mutations *kdr* pour « *knock down resistance* ») telles que L1014F (substitution d'une leucine par une phénylalanine en position 1014) et L1014S (remplacement d'une leucine par une serine à la position 1014) entraînent une diminution de l'affinité de l'insecticide à la protéine, conférant ainsi une résistance accrue aux pyréthriinoïdes et au DDT. En Afrique de l'Ouest, la mutation L1014F est fréquemment retrouvée dans les populations d'*An. gambiae s.l.* (Martinez-Torres *et al.*, 1998) alors que la mutation L1014S est plus fréquente chez les populations d'Afrique de l'Est (Ranson *et al.*, 2000).

Cependant, la résistance aux pyréthriinoïdes a été détectée pour la première fois chez *An. gambiae* au Burkina Faso en 1999 (Chandre *et al.*, 1999a). D'autres investigations plus poussées ont établi une corrélation entre la distribution de la mutation *kdr* L1014F et l'usage agricole des pyréthriinoïdes contre les ravageurs dans le bassin cotonnier du pays (Diabaté *et al.* 2002 ; Dabiré *et al.*, 2009a & b, 2012a).

2.4.2.2. La mutation *Ace-1* G116S

L'acétylcholinestérase, codée par le gène *Ace-1*, est la cible des insecticides de type organophosphoré (OP) et carbamate (CX). Ces insecticides se fixent sur l'enzyme qui n'est alors plus capable de dégrader l'acétylcholine inter-synaptique. Le signal transmis par le

neurotransmetteur sur son récepteur n'est plus interrompu, ce qui conduit à une hyperexcitation post-synaptique et à la mort de l'insecte (Massoulié *et al.*, 1993). Cette mutation du gène codant l'acétylcholinestérase résulterait d'un remplacement de la glycine par la serine au niveau du segment 119 (mutation G119S) de l'enzyme, entraînant ainsi une diminution de l'affinité de l'AChE vis-à-vis de l'insecticide (Weill *et al.*, 2003, 2004).

A l'instar des pyréthrinoïdes, en Afrique le premier cas de résistance des vecteurs aux organophosphorés et carbamates (OP/CX) a été observé chez *An. arabiensis* vis-vis du malathion et du phenthoate au Soudan (Hemingway, 1983). Par la suite cette résistance a été mise en évidence en Côte d'Ivoire au sein des populations d'*An. gambiae* (N'Guessan *et al.*, 2003). Aussi, cette mutation a été trouvée à une très faible fréquence chez *An. coluzzii* à Parakou au Bénin (Corbel *et al.*, 2007) et à des fréquences plus élevées chez d'*An. gambiae* et *An. coluzzii* dans le Sud-ouest du Burkina Faso (Dabiré *et al.*, 2009b).

2.4.3. La résistance comportementale

Une modification du comportement en réponse à l'exposition aux insecticides peut conduire à une meilleure survie des insectes. L'insecte irrité par l'insecticide s'envole plus ou moins rapidement en évitant les surfaces traitées. On parle alors de « *comportement d'évitement* » (Hamon *et al.*, 1963). Cependant, ce type de mécanisme de résistance reste relativement difficile à étudier et peu d'études sont disponibles.

2.4.4. La résistance cuticulaire

Elle désigne toute modification chimique de la cuticule de l'insecte entraînant une réduction de la pénétration de l'insecticide dans l'organisme aboutissant à une meilleure protection des individus (Plapp *et al.*, 1984).

Aux regards des limites d'efficacité, de l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance et des contraintes opérationnelles des moyens de lutte anti vectorielle, il est donc nécessaire de trouver i) d'autres molécules notamment certains pyréthrinoïdes jusque-là peu ou pas encore testés, ii) des combinaisons de pyréthrinoïdes avec d'autres insecticides non pyréthrinoïdes (CM et les OP) qui offriraient plus de possibilités d'utilisation tels les peintures insecticides (Asidi *et al.*, 2005) ou même le DEET (Pennetier *et al.*, 2005, 2007). Ces combinaisons, utilisées en mosaïque ou en mélange, pourraient induire un effet synergique et

améliorer significativement l'action des pyréthriinoïdes (Hougard *et al.*, 2003). Elles peuvent être vulgarisées comme outil de lutte opérationnelle et de gestion de la résistance aux pyréthriinoïdes.

III- MATERIEL ET METHODES

3.1. Le site d'étude

La Vallée du Kou (VK) est une zone rizicole située à une trentaine de kilomètres au Nord de Bobo-Dioulasso (Sud-Ouest du Burkina Faso). Aménagée depuis 1972, elle regroupe sept (7) quartiers rizicoles (Figure 2) avec une population estimée à 22244 habitants (INSD/RGPH, 2006) sur une superficie de 1200 ha. Cette étude a été réalisée au quartier numéro 1 (VK 1). En raison du système d'irrigation et de la disponibilité en eau, les rizières offrent aux culicidés des gîtes de développement larvaire hautement productifs et quasi permanents. Dans cette zone la transmission du paludisme à la Vallée du Kou est assurée par *An. gambiae s.l.* (Baldet *et al.*, 2003). Cependant, la résistance d'*An. gambiae s.l.* aux pyréthrinoïdes et au DDT a été observée et s'est généralisée à toutes les classes d'insecticides avec une fréquence très élevée de la mutation *kdr-L1014F* (Dabiré *et al.*, 2008 & 2009b ; Namountougou *et al.*, 2012). Le choix de ce site se justifie en grande partie par cette situation de résistance des vecteurs aux pyréthrinoïdes.

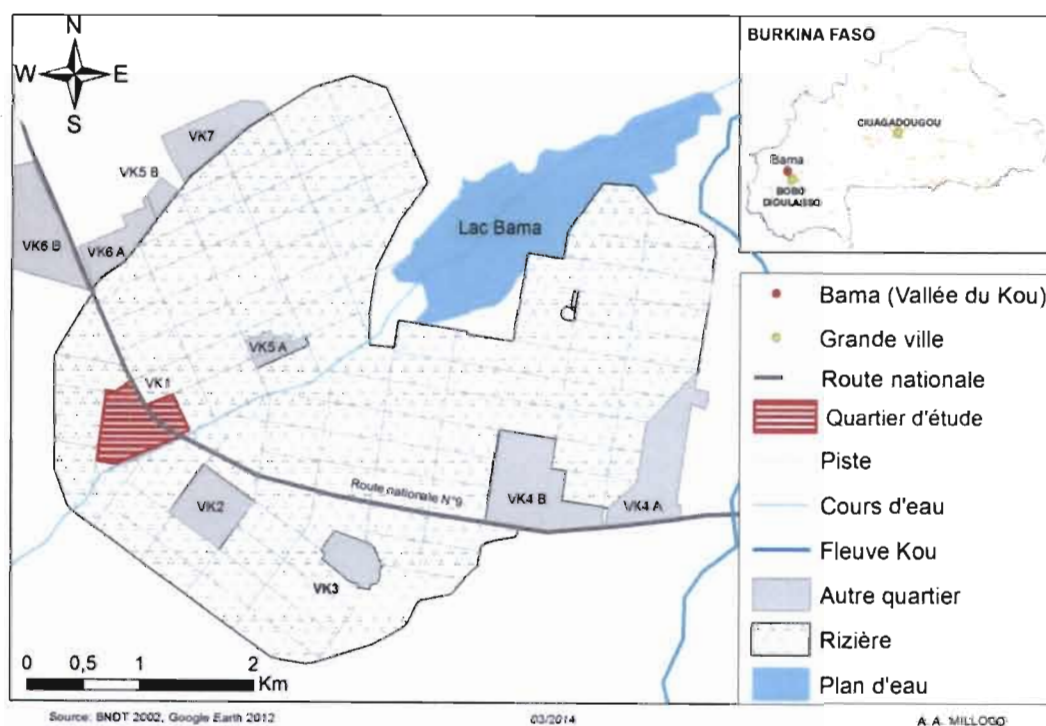


Figure 2 : Localisation de la zone d'étude.

3.2. Présentation de la peinture insecticide Inesfly®-5A IGR

La peinture insecticide Inesfly®-5A IGR est une peinture de type vinylique avec une base aqueuse contenant du carbonate de calcium (CaCO_3). Elle est composée de deux organophosphorés (chlorpyrifos 1,5% et diazinon 1,5%), d'un régulateur de croissance d'insecte (pyriproxifène 0,063%) incorporés dans des microcapsules de résine.



Figure 3: Présentation de la peinture insecticide Inesfly®-5A IGR

3.3. Les configurations de l'étude (design expérimental)

La peinture insecticide a été appliquée sur des bâches en plastique à une concentration de $1\text{kg}/6\text{m}^2$ sur les plafonds et les $\frac{1}{3}$ supérieur des murs. Les maisons choisies de façon aléatoire ont été peintes à l'intérieur avec une ou deux couches de peinture. Les différentes configurations ont été réalisées en duplicata selon deux groupes :

3.3.1. Les maisons témoins (n=4 maisons)

- Témoin sans traitement (n=2) ;
- Peinture simple (sans insecticide) : 2 couches sur murs et plafond (n=2).

3.3.2. Les maisons traitées (n=12 maisons)

- Peinture simple + Peinture Insecticide 1 couche sur murs (P. PI1CM) (n=2);
- Peinture simple + Peinture Insecticide 1 couche sur murs et plafond (P. PI/1CMP) (n=2);
- Peinture Insecticide : 1 couche sur murs (PI/1CM) (n=2) ;

- Peinture Insecticide : 1 couche sur murs et plafond (PI/1CMP) (n=2) ;
- Peinture Insecticide : 2 couches sur murs (PI/2CM) (n=2) ;
- Peinture Insecticide : 2 couches sur murs et plafond (PI/1CMP) (n=2).

3.3.3. Estimation du prix d'achat de la peinture insecticide utilisée

Les maisons sélectionnées avaient en général des superficies de 1,9 m² et 2,9 m² respectivement pour une unité (01) de couchage et deux (02) unités de couchages. Le prix d'une boîte de 10 Kg de peinture insecticide s'élevait à 140 000 FCFA. Nous avons utilisé pour les maisons ayant reçues de la peinture insecticide (n=12) environ 35 Kg de peinture, dont le prix d'achat a été estimé à 490 000 F CFA.

3.4. Les travaux de terrain

3.4.1. La collecte des moustiques dans les maisons traitées et témoins

La collecte des moustiques adultes a été effectuée pendant 4 jours successifs par mois, de juin à décembre 2013 à VK 1. Elle a été réalisée par les captures en faune résiduelle (CFR) à l'intérieur des maisons à l'aide des aspirateurs à bouche pour les moustiques vivants et par des pinces pour les morts. Les moustiques collectés ont été mis en observation pendant 24 heures dans des gobelets individuels avec du jus sucré (glucose 5%) pour la lecture de la mortalité différée. Après l'identification morphologique grâce à la clé de Gillies & Coetzee (1987), les femelles d'*An. gambiae s.l.* ont été conservées dans des tubes de 1,5 millilitre contenant du silicagel jusqu'à leur analyse au laboratoire. Sur chaque tube, on notait les références des femelles et leur état physiologique (morte ou vivante, à jeun ou gorgée).

Ces collectes ont permis de calculer deux indicateurs entomologiques que nous avons utilisés pour évaluer l'efficacité et la rémanence de la peinture insecticide:

- **effet dissuasif (déterrent)**, cet indicateur a été obtenu en comparant le nombre de moustiques collectés dans les maisons traitées par rapport aux maisons témoins ;
- **taux de mortalité**, ce dernier a été obtenu en comparant le nombre de moustiques morts par rapport au nombre total de moustiques capturés dans la maison.

3.4.2. L'évaluation de la rémanence de la peinture insecticide

La rémanence de la peinture insecticide a été évaluée chaque mois par les tests en cône OMS (WHO, 1998). Ces tests ont été réalisés avec *An. gambiae* « *Kisumu* », souche sensible de référence maintenue en élevage à l'insectarium de l'IRSS/Centre MURAZ et avec une souche « *sauvage* » d'*An. gambiae s.l.* Les larves d'*An. gambiae s.l.* « *sauvage* » ont été collectées dans des gîtes à l'aide d'une louche à VK 1 et ramenées à l'insectarium de l'IRSS/Centre MURAZ où elles ont été élevées jusqu'au stade adulte. Après émergence, les femelles ont été utilisées pour les bio-essais (WHO, 1998).

Pour chaque maison, 10 femelles d'*An. gambiae* à jeun, âgées de 2 à 5 jours ont été introduites dans 5 cônes, dont 4 fixés sur les 4 murs et 1 sur le plafond à l'intérieur de la maison pendant 30 minutes. Après cette exposition, les moustiques ont été transférés dans des gobelets et amenés au laboratoire pour être mis en observation pendant 24 heures. Ils ont été nourris au glucose 5%. Le pourcentage de mortalité a été déterminé au bout de 24 heures.

3.5. Les analyses au laboratoire

3.5.1. Les tests de sensibilité aux insecticides

La sensibilité des populations d'*An. gambiae s.l.* a été testée avec les trois familles d'insecticides utilisés en santé publique (WHO, 1998) (Figure 4). Elle a été comparée à celle de la souche d'*An. gambiae* « *Kisumu* » utilisé comme témoin sensible. Il s'agit de :

- un pyréthrianoïde (PY): la perméthrine 0,75% ;
- un carbamate (CX): le bendiocarb 0,1% ;
- deux organophosphorés (OP): le fénitrothion (Féni) 1% et le pyrimiphos-méthyl (PM) 0,25%.

Pour chaque test, quatre (4) lots de moustiques ont été exposés à l'insecticide (papier imprégné de l'insecticide à tester à la dose diagnostique) et un lot témoin exposé au papier contenant l'adjuvant ayant servi à l'imprégnation (sans insecticide). Chaque lot comprenait 25 femelles d'*An. gambiae s.l.* Pendant l'exposition à l'insecticide qui durait une heure, les moustiques assommés étaient dénombrés à intervalles de temps réguliers ou temps de *kd* de 5 minutes (WHO, 1998). Au terme de cette période, les moustiques étaient à nouveau transférés dans des tubes d'observation et laissés en position verticale, le taux de mortalité différée était

calculé au bout de 24 heures. Pour que le test soit validé, la mortalité dans les tubes témoins devait être inférieure à 20%. Si celle-ci était comprise entre 5 et 20%, la mortalité des traités était corrigée selon la formule d'Abbott (Abbott, 1925). Si elle était supérieure à 20%, le test n'était pas validé et devait être recommencé. La sensibilité des populations locale d'*An. gambiae s.l.* de VK 1 a été comparée à celle de la souche sensible de référence d'*An. gambiae Kisumu*. Les taux de mortalité ont été interprétés selon les critères proposés par l'OMS (WHO, 1998):

- Population résistante = mortalité < 80% ;
- Résistance intermédiaire ou résistance probable = 80% < mortalité < 98% ;
- Population sensible = mortalité > 98%.

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\% \text{ de mortalité dans le lot exposé} - \% \text{ de mortalité dans le lot témoin}}{100 - \% \text{ de mortalité dans le lot témoin}}$$

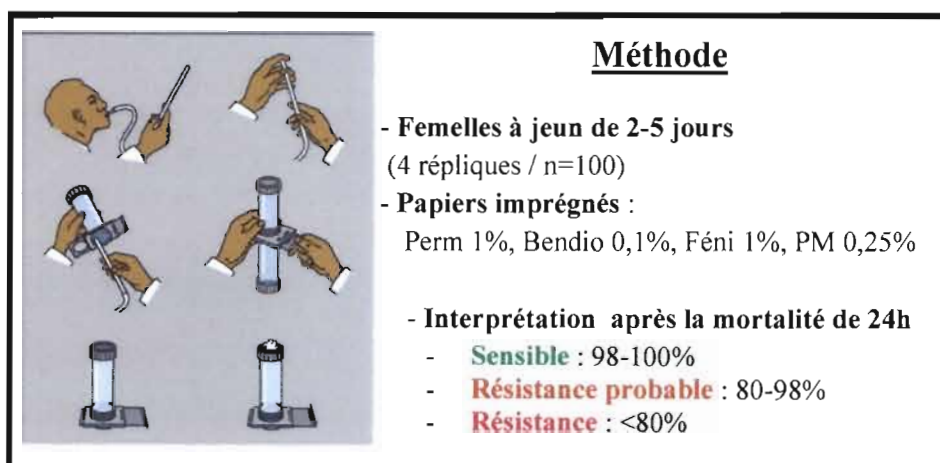


Figure 4: Différentes étapes du test de sensibilité en tube OMS (WHO, 1998)

3.5.2. Les analyses moléculaires

Trente spécimens (vivants et morts) ont été choisis de façon randomisée par bras toutefois en les regroupant par dosage d'insecticide (1 couche ou 2 couches) et par date pour les analyses moléculaires. L'ADN génomique a été extrait dans du CTAB 2% (Annexe 1).

3.5.2.1. L'identification des espèces du complexe *gambiae*

L'amplification en chaîne par polymérase ou réaction en chaîne par polymérase (PCR) pour l'identification d'espèces d'*An. gambiae s.l.* rencontrées à VK 1 a été réalisée selon le protocole de Santolamazza *et al.* (2008) (Annexe 2).

3.5.2.2. La caractérisation des gènes de résistance

La recherche des gènes de résistances *kdr* a été réalisée suivant le protocole de Martinez-Torres *et al.* (1998) (Annexe 3) pour la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest et la mutation *Ace-1^RG116S* selon le protocole de Weill *et al.* (2004) (Annexe 4).

3.6. Les analyses statistiques et le traitement des données

Les données ont été saisies à l'aide du logiciel Microsoft Excel version 2013 et analysées à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 5.00 afin de comparer deux à deux la configuration des maisons mais aussi entre les témoins et traitées pour chaque indicateur entomologique. La comparaison a été faite par une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (traitement et temps) en utilisant la correction de Bonferroni avec un intervalle de confiance de 95% et le test -exact de Fisher. La valeur de $p < 0,05$ a été fixée comme seuil de significativité à 95% d'intervalle de confiance. La fréquence allélique de chacune des mutations *kdr* et *Ace-1^R* a été calculée suivant la formule $F(R) = (2RR + RS)/2n$ avec n = effectif total de la population en utilisant le logiciel GenePop version 4. Les calculs des paramètres induits par les traitements insecticides ont été faits comme suit :

- **effet dissuasif** = $\frac{\text{nombre de femelles «témoin»} - \text{nombre de femelles «traité»}}{\text{Nombre femelles du témoin}} \times 100$

- **taux de mortalité** = $\frac{\text{nombre de femelles morts dans la maison}}{\text{Nombre total de femelles collectés}} \times 100$

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{mortalité « traitées »} - \text{mortalité « témoins »}}{100 - \text{mortalité « témoin »}} \times 100$$

3.7. Les considérations éthiques

Le protocole de recherche a été examiné et validé par le comité d'éthique institutionnel du Centre MURAZ.

IV- RESULTATS

4.1. Le taux d'entrée et l'effet dissuasif

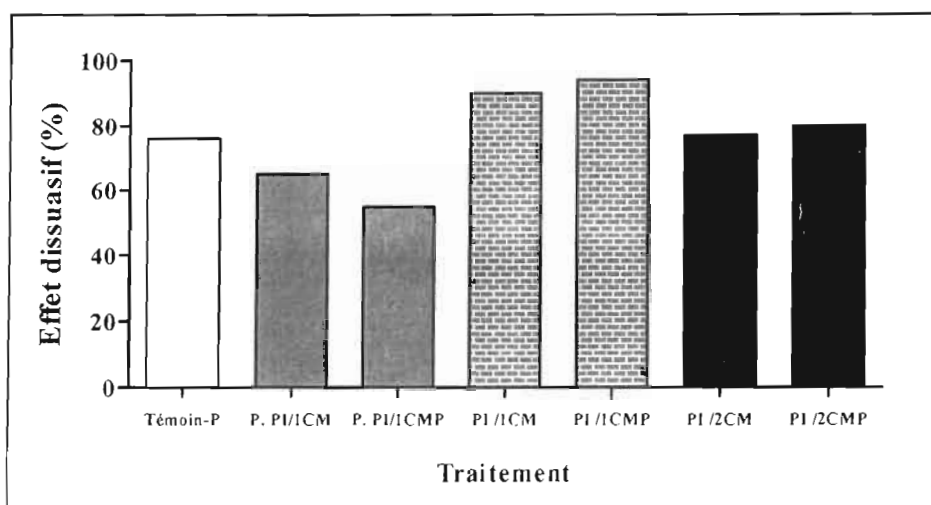
Au total 2048 femelles d'*An. gambiae s.l.* ont été collectées dans les maisons témoins (sans traitement insecticide), contre 501, 1945 et 874 dans les maisons traitées respectivement avec la peinture simple, la peinture insecticide une couche et deux couches de juin à décembre 2013 (Tableau I).

A l'exception des trois premiers mois (T0 à T3) de l'évaluation, toutes les maisons traitées ont montré un effet dissuasif positif avec une réduction du taux d'entrée variant entre 60 à 90% jusqu'au 5^{ème} mois comparativement aux maisons témoins (Tableau I). Quant à la dose d'insecticide appliquée (nombre de couches), les maisons traitées seulement avec « une couche » ont montré un effet dissuasif similaire entre elles mais supérieur à celui des maisons traitées avec « deux couches » et celles traitées avec de la peinture simple plus de peinture insecticide (Figure 5).

Tableau I : Effet dissuasif (déterrent) induit par les traitements contre *An. gambiae s.l.*

Temps	Témoin neutre	Peinture simple	P. PI/1CM	P. PI/1CMP	PI/1CM	PI/1CMP	PI/2CM	PI/2CMP
T 0	-	45	-109	50	-27	27	-	41
T 1	-	7	62	-20	22	73	29	8
T 2	-	6	40	-25	80	3	-34	27
T 3	-	86	74	71	91	92	64	88
T 4	-	89	66	83	92	86	74	89
T 5	-	73	54	74	78	80	39	78
T 6	-	57	-414	0	-29	-57	-600	-29
Total collecté	2048^a	501^b	709^b	919^b	202^b	115^b	465^b	409^b

T0 (0) à T6 (6) mois après le traitement. P : peinture ; PI : peinture insecticide ; CM : Couche sur Mur ; CMP : Couche sur Mur et Plafond. (-) : non déterminé. Les nombres en ligne ayant la même lettre en exposant ne sont pas statistiquement significatif ($p > 0,05$). Test ANOVA et test -exact de Fisher de suivi de la correction de Bonferroni.



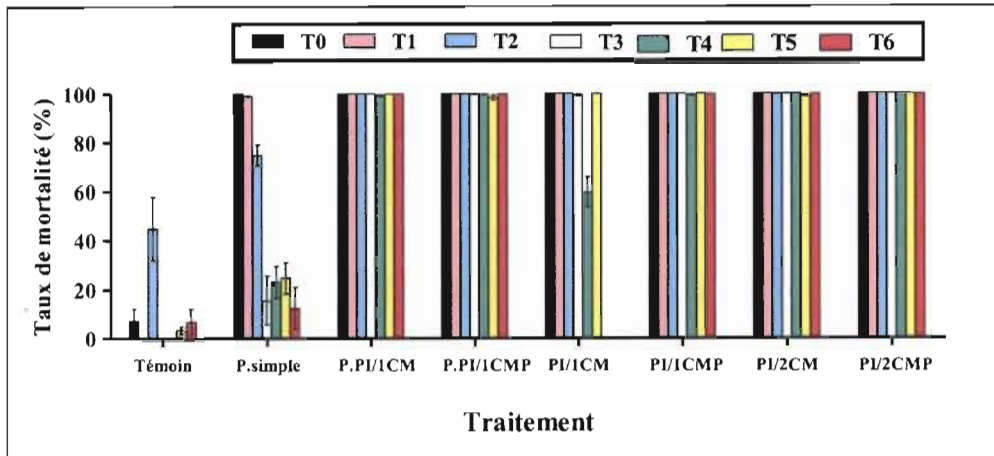
P : peinture ; PI : peinture insecticide ; CM : Couche sur Mur ; CMP : Couche sur Mur et Plafond

Figure 5 : Comparaison des effets dissuasifs globaux induits par les traitements contre *An. gambiae s.l*

4.2. Le taux de mortalité

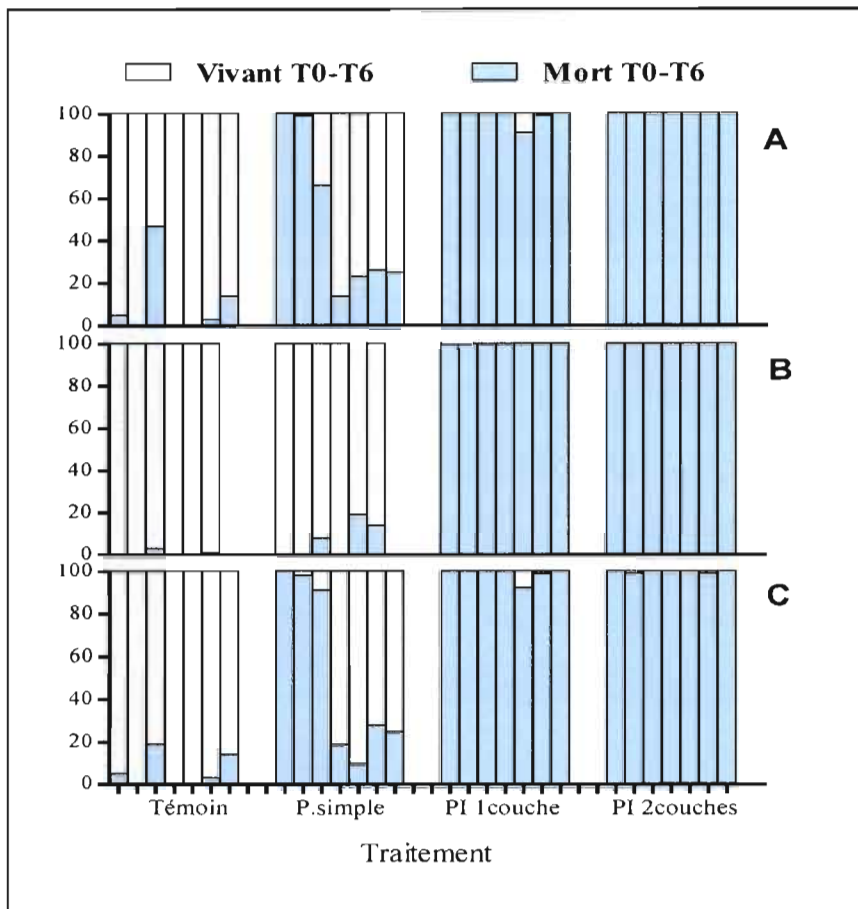
Les mortalités observées dans les maisons traitées avec la peinture insecticide étaient comprises entre 98 et 100%, sauf la combinaison « peinture insecticide une couche sur mur », où la mortalité a été de 60% au 5^{ème} mois (T5) après le traitement. Les mortalités dans les maisons traitées étaient statistiquement plus significatives par rapport aux témoins ($p < 0,0001$) sauf au 2^{ème} mois après le traitement (Figure 6).

Ainsi, nous avons observé une forte proportion de moustiques morts dans les maisons traitées avec la peinture insecticide (98 à 100%) (Figure 7A). En revanche, ceux collectés dans les maisons témoins étaient presque tous vivants (0 à 3% de mortalité), à l'exception des maisons traitées avec la peinture simple ou la mortalité était élevée uniquement au trois premiers mois (75 à 100%) (Figure 7A). Par ailleurs, tous les moustiques gorgés collectés dans les maisons traitées avec la peinture insecticide étaient morts (100% de mortalité) (Figure 7B). Aussi, nous avons obtenu des résultats similaires avec les moustiques à jeun collectés à l'intérieur des maisons (Figure 7C).



P : peinture ; PI : peinture insecticide ; CM : Couche sur Mur ; CMP : Couche sur Mur et Plafond.

Figure 6 : Taux de mortalité obtenu avec les populations sauvages d'*An. gambiae s.l.*

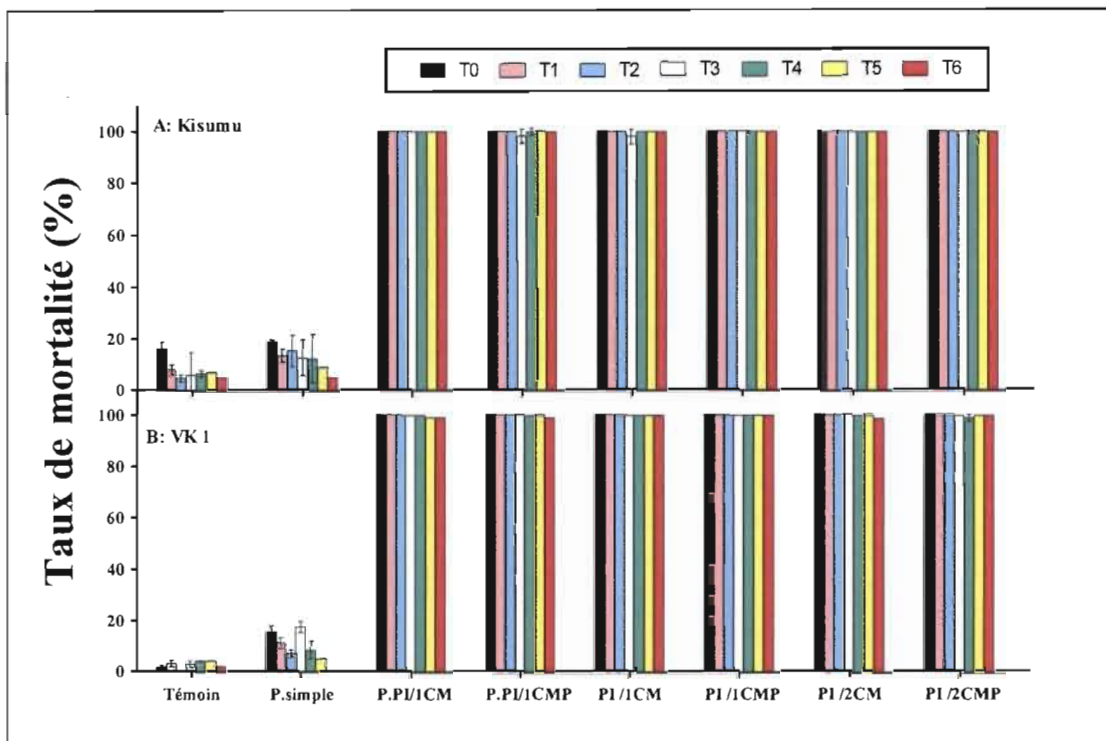


P : peinture ; PI : peinture insecticide.

Figure 7 : Proportion d'*An. gambiae s.l.* collectés morts ou vivants (A), gorgés (B) et à jeun (C)

4.3. La rémanence de la peinture insecticide

Les mortalités observées dans les maisons traitées étaient comprises entre 98 et 100% avec à la fois la souche d'*An. gambiae* « Kisumu » et *An. gambiae* « sauvage », 6 mois après l'application de la peinture insecticide (Figure 8). Les mortalités observées dans le lot des témoins étaient supérieures à 5%. La mortalité des traités a donc été corrigée par la formule d'Abott.



P : peinture ; PI : peinture insecticide ; CM : Couche sur Mur; CMP : Couche sur Mur et Plafond.

Figure 8 : Taux de mortalité d'*An. gambiae* « Kisumu » et « sauvage » de la VK 1

4.4. La sensibilité d'*An. gambiae s.l.* aux insecticides

Les taux de mortalité de 100% ont été obtenus avec le fénitrothion 1% et le pirimiphos methyl 0,25% qui sont tous deux des organophosphorés avec les populations sauvages d'*An. gambiae s.l.* de VK 1 (Figure 9). Par contre, avec la perméthrine 0,75% et le bendiocarb 0,1% les mortalités étaient respectivement de 15% et de 53% (Figure 9).

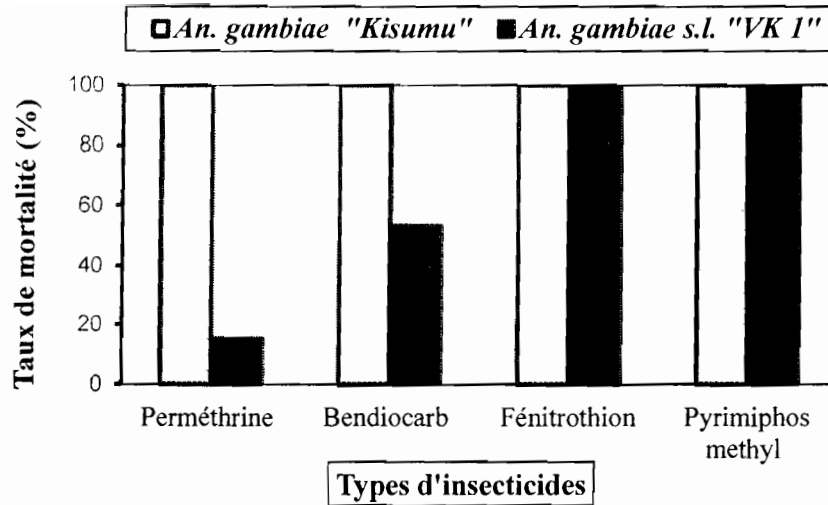


Figure 9: Sensibilité d'*An. gambiae s.l.* VK 1 aux insecticides

4.5. Les analyses moléculaires

4.5.1. La composition spécifique d' *An. gambiae s.l.* à VK 1

Au total, 769 *An. gambiae s.l.* ont été analysés par PCR pour l'identification des espèces. *An. gambiae s.l.* était exclusivement composé par *An. coluzzii* (100%) au sein de notre échantillon testé et ce pendant les six mois d'évaluation (Tableau II).

Tableau II: Composition spécifique d' *An. gambiae s.l.* à VK 1

Traitements	Mois	Total	<i>An. gambiae</i>		<i>An. coluzzii</i>		<i>An. arabiensis</i>	
			N	%	N	%	N	%
Témoin	T0	30	0	0	30	100	0	0
	T1	30	0	0	30	100	0	0
	T2	30	0	0	30	100	0	0
	T3	30	0	0	30	100	0	0
	T4	30	0	0	30	100	0	0
	T5	23	0	0	23	100	0	0
	T6	7	0	0	7	100	0	0
Peinture simple	T0	30	0	0	30	100	0	0
	T1	30	0	0	30	100	0	0
	T2	30	0	0	30	100	0	0
	T3	29	0	0	29	100	0	0
	T4	26	0	0	26	100	0	0
	T5	30	0	0	30	100	0	0
	T6	15	0	0	15	100	0	0
PI une couche	T0	30	0	0	30	100	0	0
	T1	30	0	0	30	100	0	0
	T2	30	0	0	30	100	0	0
	T3	30	0	0	30	100	0	0
	T4	30	0	0	30	100	0	0
	T5	30	0	0	30	100	0	0
	T6	13	0	0	13	100	0	0
PI deux couches	T0	30	0	0	30	100	0	0
	T1	30	0	0	30	100	0	0
	T2	30	0	0	30	100	0	0
	T3	30	0	0	30	100	0	0
	T4	30	0	0	30	100	0	0
	T5	24	0	0	24	100	0	0
	T6	32	0	0	32	100	0	0

N: nombre de moustiques, PI : Peinture insecticide
 Juin (T0) à Décembre (T6) après l'application de la peinture.

4.5.2. La distribution des gènes de résistance chez les populations *An. coluzzii*

4.5.2.1. Les fréquences alléliques de la mutation *kdr L1014F*

La fréquence de la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest (*kdr L1014F*) était en moyenne supérieure à 60% (Tableau III) durant toute l'étude. En outre aucune différence n'a été observée entre les maisons traitées et témoins d'une part, d'autre part entre les maisons traitées ($p=0,2342$).

4.5.2.2. La fréquence de la mutation *Ace-1^R*

La mutation *Ace-1^R* a été détectée à de très faibles fréquences (1 à 2%) à VK 1 de façon générale. En comparant les traitements entre eux et avec le témoin, aucune différence significative n'a été observée ($p=0,2500$) (Tableau IV).

Tableau III : Distribution de la fréquence des mutations *kdr L1014F* chez *An. coluzzii*

Traitement	Mois	N	Génotypes			f(1014F)	p(HW)	[95%CI]
			1014L	1014L	1014F			
Témoin	T0	30	7	3	20	0,717	0,0001	[0,00-0,18]
	T1	30	0	0	30	0,98	-	[0,93-1,03]
	T2	30	11	2	17	0,6	0	[0,42-0,78]
	T3	31	8	3	20	0,694	0	[0,53-0,86]
	T4	30	7	0	23	0,767	0	[0,62-0,92]
	T5	25	5	0	20	0,8	0	[0,64-0,96]
	T6	7	1	0	6	0,857	0,0769	[0,60-1,12]
Peinture simple	T0	10	1	1	8	0,85	0,1579	[0,63-1,07]
	T1	29	0	0	29	0,98	-	[0,93-1,03]
	T2	30	4	1	25	0,85	0,0001	[0,72-0,98]
	T3	30	3	0	27	0,9	0,0001	[0,79-1,01]
	T4	30	5	0	25	0,833	0	[0,70-0,97]
	T5	30	10	3	17	0,617	0	[0,44-0,79]
	T6	15	7	0	8	0,533	0	[0,28-0,79]
PI une couche	T0	30	3	0	27	0,9	0,0001	[0,79-1,01]
	T1	28	1	0	27	0,964	-	[0,89-1,03]
	T2	30	4	3	23	0,817	0,0017	[0,68-0,96]
	T3	31	6	1	24	0,79	0	[0,65-0,93]
	T4	29	3	6	20	0,793	0,0659	[0,65-0,94]
	T5	30	4	7	19	0,75	0,0481	[0,60-0,90]
	T6	28	12	5	11	0,482	0,0006	[0,30-0,67]
PI deux couches	T0	30	4	0	26	0,867	0	[0,75-0,99]
	T1	31	0	0	31	0,98	0	[0,93-1,03]
	T2	30	4	0	26	0,867	0	[0,75-0,99]
	T3	31	9	0	22	0,71	0	[0,55-0,87]
	T4	29	3	0	26	0,897	0,0001	[0,79-1,01]
	T5	30	4	10	16	0,7	0,3784	[0,54-0,86]
	T6	32	15	5	12	0,453	0,0001	[0,28-0,63]

N: nombre de moustiques, PI: Peinture Insecticide
f(1014F): fréquence allélique de la mutation *kdr 1014F*
p(HW): probabilité de test exact de l'équilibre d'Hardy-Weinberg
[95%CI]: intervalle de confiance à 95%; « ->»: non déterminé

Tableau IV : Fréquences alléliques et génotypes de la mutation *Ace-1^R* chez *An. coluzzii*

Traitement	Mois	N	Génotypes			f(119S)	[95%CI]	p(HW)
			119G	119G	119S			
			119G	119S	119S			
Témoin	T0	30	25	5	0	0,083	[0,00-0,18]	1
	T1	30	30	0	0	0	-	-
	T2	30	30	0	0	0	-	-
	T3	30	30	0	0	0	-	-
	T4	30	30	0	0	0	-	-
	T5	23	21	2	0	0,04	[0,00-0,12]	1
	T6	7	7	0	0	0	-	-
Peinture simple	T0	30	30	0	0	0	-	-
	T1	30	30	0	0	0	-	-
	T2	30	30	0	0	0	-	-
	T3	29	29	0	0	0	-	-
	T4	26	26	0	0	0	-	-
	T5	30	30	0	0	0	-	-
	T6	15	15	0	0	0	-	-
PI une couche	T0	30	30	0	0	0	-	-
	T1	30	30	0	0	0	-	-
	T2	30	30	0	0	0	-	-
	T3	30	30	0	0	0	-	-
	T4	30	30	0	0	0	-	-
	T5	30	30	0	0	0	-	-
	T6	13	13	0	0	0	-	-
PI deux couches	T0	30	30	0	0	0	-	-
	T1	30	30	0	0	0	-	-
	T2	30	30	0	0	0	-	-
	T3	30	30	0	0	0	-	-
	T4	30	30	0	0	0	-	-
	T5	24	24	0	0	0	-	-
	T6	32	28	4	0	0,062	[0,00-0,15]	1

N: nombre de moustiques, P : Peinture, PI: Peinture Insecticide
 f(119S): fréquence allélique de la mutation *Ace-1 119S*
 p(HW): probabilité de test exact de l'équilibre d'Hardy-Weinberg
 [95%CI]: intervalle de confiance à 95%; « - »: non déterminé

V- DISCUSSION

5.1. Le taux d'entrée des moustiques et l'effet dissuasif

Dans notre étude un effet dissuasif global a été observé, ce qui n'est pas toujours le cas avec les OP qui n'ont pas d'effet répulsif. En effet, nos résultats concordent avec ceux de N'Guessan *et al.* (2010) et Assidi *et al.* (2005) qui ont montré des effets dissuasifs lors d'un essai avec un OP en cases expérimentales. Par contre une étude réalisée au Bénin avec la même peinture insecticide (à base d'OP) n'a pas induit d'effet dissuasif contre *An. gambiae* (Mosqueira *et al.*, 2010b).

5.2. L'efficacité et la rémanence de la peinture insecticide

Pour lutter contre les moustiques nuisibles et vecteurs de maladies, le choix d'un insecticide n'est pas toujours facile pour les responsables de la santé. Ils doivent intégrer les notions d'efficacité des traitements, leur non toxicité sur l'homme ainsi que le rapport coût/efficacité (Darriet *et al.*, 2002).

Ainsi, plusieurs études sur la tolérance et la toxicité de la peinture insecticide Inesfly ont été faites. Les résultats ont été encourageants (CIDIEM, 2003 ; Mosqueira *et al.*, 2010a).

De nos résultats, il ressort que toutes les maisons traitées présentent une bonne rémanence et une bonne efficacité de l'insecticide (98-100%) pendant six mois dans un milieu où les vecteurs sont résistants aux pyréthrinoïdes et aux carbamates. Par contre la mortalité observée dans les maisons « peinture simple » serait due à l'irritabilité de la peinture qui s'est dissipée progressivement au cours des mois.

5.3. La sensibilité des vecteurs aux insecticides

Par ailleurs, les résultats des tests en tubes OMS, ont montré que la population sauvage de VK 1 est sensible au fénitrothion et au pyrimiphos methyl (organophosphorés). Cependant, elle présente une résistance au bendiocarb (carbamate) et à la perméthrine (pyréthrinoïde). Ces résultats confirment le fait que la zone d'étude est une zone de résistance aux pyréthrinoïdes et aux carbamates confirmant les résultats de plusieurs études antérieures menées dans la même zone (Dabiré *et al.*, 2009a&b).

5.4. La composition de la faune vectrice

Les résultats de nos analyses ont montré qu'*An. coluzzii* était la seule espèce rencontrée pendant la période de l'étude (juin à décembre). Cette quasi-dominance d'*An. coluzzii* serait due à la présence des gîtes larvaires constitués principalement par les casiers rizicoles, les collections d'eau permanentes et semi-permanentes (canaux d'irrigation, retenue d'eau, caves de briques, etc) favorables au développement de cette espèce (Touré *et al.*, 1998). Aussi sa plasticité comportementale lui permettrait de se développer toute l'année malgré la très forte pression de prédateurs dans les gîtes (Diabaté *et al.*, 2008 ; Gimonneau *et al.*, 2010).

En outre, malgré la pression anthropique, le changement du milieu naturel, la composition des vecteurs n'a pas beaucoup varié depuis les travaux de Diabaté *et al* (2002) dans cette zone rizicole.

5.5. La distribution des gènes de résistance

La mutation *kdr L1014F* a été observée au cours de l'étude, avec des fréquences supérieures à 80% quel que soit le mois à l'exception du T6 pour certains bras. La forte fréquence du gène *kdr L1014F* observée (plus de 80%) serait due, à la pression des insecticides utilisés dans les pratiques agricoles (riziculture, maraichage) et en hygiène domestique (utilisation croissante des tortillons, des MILDA). De plus, cette situation serait due à l'augmentation du niveau de résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides qui s'est généralisée ces dernières années à toutes les familles d'insecticides utilisés en LAV au Burkina Faso (Dabiré *et al.*, 2012a).

Quant à la mutation *Ace-1*, elle a été détectée avec des fréquences faibles (1 à 2%). Nos résultats diffèrent avec plusieurs études réalisées au Burkina (Dabiré *et al.*, 2008, 2012a) qui ont montré une fréquence relativement élevée de cette mutation *Ace-1* chez les populations sauvages d'*An. gambiae s.l.* Apparemment, on assisterait à une baisse des fréquences de cette mutation qui pourrait être liée au changement du schéma de traitement agricole qui était en vigueur il y a dix ans et qui utilisait plus d'organophosphorés.

La recherche d'alternatives aux pyréthrianoïdes est un axe de recherche majeur de la lutte anti-vectorielle depuis quelques années car la résistance à ces insecticides s'est généralisée dans plusieurs pays et peuvent être un obstacle pour l'atteinte des objectifs des programmes

nationaux de lutte contre le paludisme (Hemingway *et al.*, 2006). Nos résultats ont montré que la peinture insecticide n'induit aucune sélection différentielle des fréquences des gènes de résistance *kdr* et *Ace-1^R* entre les maisons témoins et les maisons traitées avec la peinture insecticide ($p=0,2$). En outre, le niveau de la mutation *Ace-1^R* était très faible et aucune différence n'a été observée entre les traitées et le témoin ceci témoigne d'une non sélection de résistance par cette peinture insecticide (OP) ce qui lui confère un avantage pour son utilisation future. Mais, il serait très précoce de parler de la non sélection des gènes de résistances par la peinture insecticide car le délai de six mois serait courte.

VI- CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de cette étude obtenus au bout de six (6) mois sont d'autant plus encourageants (100% d'efficacité), quoique au Bénin, ils ont continué d'observer une bonne efficacité (80%) au bout de 12 mois en cases expérimentales. En plus, la peinture insecticide qu'elle soit appliquée en une couche ou deux couches nous obtenons le même niveau d'efficacité. Par ailleurs, cette peinture insecticide offre une approche opérationnelle différente de la pulvérisation intra-domiciliaire, en ce sens que son application ne requiert pas de personnel qualifiés ni d'équipements spéciaux. Ces atouts en font un outil prometteur de lutte anti-vectorielle qui pourrait être utilisée de façon intégrée contre les vecteurs résistants aux pyréthriinoïdes et aux carbamates.

Il serait intéressant en perspectives de :

- évaluer à l'échelle communautaire l'acceptabilité par la population de la peinture insecticide par rapport aux autres outils de lutte tels que les MILDA ou les PID ;
- utiliser contre d'autres vecteurs tels que les *Aedes* vecteurs de la dengue et les culicidés causant la nuisance ;
- évaluer son impact sur la transmission du paludisme.

VII- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abbott W. S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol* 18: 265-267.
2. Alphey L., Beard C. B., Billingsley P., Coetzee M., Crisanti A., Curtis C., Eggleston P., Godfray C., Hemingway J., Jacobs-Lorena M., James A. A., Kafatos F. C., Mukwaya L. G., Paton M., Powell J. R., Schneider W., Scott T. W., Sina B., Sinden R., Sinkins S., Spielman A., Touré Y., Collins F. H., 2002. Malaria control with genetically manipulated insect vectors. *Science*. 298:119-21.
3. Alphey L., Benedict M., Bellini R., Clark G. G., Dame D. A., Service M. W., Dobson S.L., 2010. Sterile-Insect Methods for Control of Mosquito-Borne Diseases: An Analysis. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 295-311.
4. Ayres C. F., Müller P., Dyer N., Wilding C. S., Rigden D. J., Donnelly M. J., 2011. Comparative genomics of the anopheline glutathione S-transferase epsilon cluster. *PLoS ONE* 6: 12.
5. Badolo A., Traoré A., Jones C. M., Sanou A., Flood L., Guelbeogo W. M., Ranson H., Sagnon N. F., 2012. Three years of insecticide resistance monitoring in *Anopheles gambiae* in Burkina Faso: resistance on the rise, *Malar J*. 11: 232.
6. Baldet T., Diabaté A., Guiguemdé R. T., 2003. La transmission du paludisme dans la zone rizicole de la Vallée du Kou (Bama), Burkina-Faso. *Cahiers Santé*. 13 : 55-60.
7. Beir J., Keating J., Githure J., Macdonald M., Impoinvil D., Novak R., 2008. Integrated vector management for malaria control. *Malar J*. 7: 4.
8. Bruce-Chwatt L. J., 1987. Malaria and its control: present situation and future prospects. *Ann. Rev. Pub. Health* 8: 75-108.
9. Carnevale P., Robert V., Boudin C., Halna J. M. Pazart L., Richard A., Mouchet J., 1988. La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyrèthrinoides au Burkina Faso. *Bull Soc Path Exo* 81: 832-846.
10. Carnevale P., Mouchet J., 1990. Lutte antivectorielle et lutte antipaludique. *Med Trop* 50: 391-338.
11. Catteruccia F., Crisanti A., Wimmer E. A., 2009. Transgenic technologies to induce sterility *Malar J*. 8: 2.
12. Chandre F., Darriet F., Manga L., Akogbeto M., Faye O., Mouchet J., Guillet P., 1999. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensus lato*. *Bull WHO* 77: 230-234.
13. Chang X., Zhong D., Fang Q., Hartsel J., Zhou G., Shi J., Fang F., Zhu C., Yan G., 2014. Multiple Resistances and Complex Mechanisms of *Anopheles sinensis*

Mosquito: A Major Obstacle to Mosquito-Borne Diseases Control and Elimination in China. *PLoS Negl Trop Dis.* 8 : 5.

14. Strode C., Donegan S., Garner P., Enayati A. A., Hemingway J., 2014. The Impact of Pyrethroid Resistance on the Efficacy of Insecticide-Treated Bed Nets against African Anopheline Mosquitoes: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Med* 11: 3.
15. Cohuet A., Simard F., Wondji C., Antonio-Nkondjio C., Awono-Ambene P., Fontenille D., 2004. High malaria transmission intensity due to *Anopheles funestus* in a village of Savannah-Forest transition area in Cameroon. *J Med Entomol* 41: 901-905.
16. Coetzee M., Hunt R. H., Wilkerson R., della Torre A., Coulibaly M. B., Besansky N. J., 2013. *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa.* 3619: 246–274.
17. Corbel V., N'Guessan R., Brengues C., Chandre F., Djogbenou L., Martin T., Akogbeto M., Hougard J.M., Rowland M., 2007. Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa. *Acta Trop* 101: 207-216.
18. Culuzzi M., Petrarca V., Dideco M. A., 1985. Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in *Anopheles*. *Boll Zool* 52: 45-63.
19. Dabiré K. R., Baldet T., Diabaté A., Dia I., Costantini C., Cohuet A., Guiguemdé T. R., Fontenille D., 2007. *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) in a Humid Savannah Area of Western Burkina Faso: Bionomics, insecticide resistance status, and role in malaria transmission, *J. Med. Entomol* 44: 990-997.
20. Dabiré K. R., Diabaté A., Djogbenou L., Ouari A., N'Guessan R., Ouédraogo J. B., Hougard M., Chandre F., Baldet T., 2008. Dynamics of multiple insecticide resistance in the malaria vector. *Malar J.* 9: 1-9.
21. Dabiré K. R., Diabaté A., Namountougou M., Toe K. H, Ouari A., Kengne P., Bass C., Baldet T., 2009a. Distribution of pyrethroid and DDT resistance and the L1014F *kdr* mutation in *Anopheles gambiae* s.l. from Burkina Faso (West Africa). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 103: 1113-1120.
22. Dabiré K. R., Diabaté A., Namountougou M., Djogbenou L., Kengne P., Simard F., Bass C., Baldet T., 2009b. Distribution of insensitive acetylcholinesterase (ace-1R) in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Burkina Faso (West Africa). *Trop Med Int Health* 14: 396-403.
23. Dabiré K. R., Diabaté A., Namountougou M., Djogbenou L., Wondji C., Chandre F., Simard F., Ouédraogo J.B., Martin T., Weill M., Baldet T., 2012a. Trends in Insecticide Resistance in Natural Populations of Malaria Vectors in Burkina Faso,

West Africa: 10 Years' Surveys. In: Perveen F, editors. *Insecticides - Pest Engineering*. ISBN. InTech 479-502.

24. Dabiré K. R., Namountougou M., Sawadogo S. P., Lassina B.Y., Toé K. H., Ouari A., Gouagna L. C, Simard F., Chandre F., Baldet T., Bass C., Diabaté A., 2012b. Population dynamics of *Anopheles gambiae s.l.* in Bobo-Dioulasso city: bionomics, infection rate and susceptibility to insecticides. *Parasites & Vectors* 5: 127.
25. Darriet F., Robert V., Tho View N., Carnevale P., 1984. Evaluation of the efficacy of permethrin impregnated intact and perforated mosquito nets against vector of malaria. *WHO/VBC/84.889*.
26. Darriet F., 1991. Field trial of the efficacy of 3 pyrethroids in the control of malaria vectors. *Parassit* 33 : 111-119.
27. Darriet F., 1998. Lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies. Editions Karthala- *Cahiers ORSTOM* 120.
28. Darriet F., N'guessan R., Hougard J.M., Traore-Lamizana M., Carnevale P., 2002. An experimental tool essential for the evaluation of insecticides: the testing huts. *Bull Soc Pathol Exot* 95: 299-303.
29. della Torre A., Fanello C., Akogbeto M., Dossou-Yovo J., Favia G., Petrarca V., Coluzzi M., 2001. Molecular evidence of incipient speciation within *An. gambiae s.s* in West Africa. *Insect Mol. Biol* 10: 9-18.
30. della Torre A., Costantini C., Besansky N.J., Caccone A., Petrarca V., Powell J. R., Coluzzi M., 2002. Speciation within *Anopheles gambiae* - The glass is half full. *Science* 298: 115-117.
31. della Torre A., Tu Z., Petrarca V., 2005. On the distribution and genetic differentiation of *Anopheles gambiae s.s.* molecular forms. *Insect Bioch Mol Biol* 35: 755-769.
32. Diabaté A., Baldet T., Chandre F., Akogbeto M., Darriet F., Brengues C., Guiguemé T R., Guillet P., Hemingway J., Hougard J .M., 2002. The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae s.l.* in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg* 67: 617-622.
33. Diabaté A., Brengues C., Baldet T., Dabiré K. R, Hougard J. M, Akogbeto M., Kengne P., Simard F., Guillet P., Hemingway J., Chandre F., 2004. The spread of the Leu-Phe *kdr* mutation through *Anopheles gambiae* complex in Burkina Faso: genetic introgression and de novo phenomena. *Trop Med Int Health* 9: 1267-1273.
34. Diabaté A., Dabiré R., Heidenberger K., Crawford J., Lamp W., Culler L., Lehmann T., 2008. Evidence for divergent selection between the molecular forms of *Anopheles gambiae*: role of predation. *BMC Evolutionary Biology* 8: 5.

35. Eldefrawi A. T., Eldefrawi M. E., 1976. Identification of a calcium-binding subunit of the acetylcholine receptor. *Biochem Biophys Res Commun*; 70: 1020-7.
36. Enayati A., Lines J., Maharaj R., Hemingway J., 2009. Shrinking the Malaria Map: A Prospectus on Malaria Elimination. Edited by Feachem RGA, Phillips AA, and Targett GA, San Francisco: *The Global Health Group*. Chapter 9: Suppressing the Vector: 140-154.
37. Favia G., Lanfrancotti A., Spanos L., Siden-Kiamos I., Louis C., 2001. Molecular characterization of ribosomal DNA polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae s.s.* *Insect Mol Biol* 10: 19-23.
38. French-Constant R. H., Daborn P. J., LeGoff G., 2004. The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends in Genetics* 20: 163-170.
39. Fontenille D., Cohuet A., Awono-Ambene P. H., Antonio-Nkondjio C., Wondji C., Kengne P., Dia I., Boccolini D., Duchemin J. B., Rajaonarivelo V., Dabiré R., Adja-Akre M., Ceainu C., LeGoff G., Simard F., 2003. Systématique et biologie des anophèles vecteurs de *Plasmodium* en Afrique, données récentes. *Med Trop*; 63: 247-253.
40. Fontenille D., Simard F., 2004. Unravelling complexities in human malaria transmission dynamics in Africa through a comprehensive knowledge of vectors populations. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 27: 357-375.
41. Gillies M. T., Coetzee M., 1987. A supplement to the *Anophelinae* of Africa South of the Sahara (Afrotropical Region). Vol. 55. *Institute of Medical Research, Johannesburg, South Africa* 143.
42. Gimonneau G., Boyer J., Morand S., Besansky J. N., Diabaté A., Simard F., 2010. A behavioral mechanism underlying ecological divergence in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Behav Ecol.* 21: 1087-1092.
43. Hamon J., Chauvet G., Mouchet J., 1963. Quelques aspects de l'écologie des vecteurs du paludisme humain en Afrique. *Cahiers ORSTOM* 1: 5-15.
44. Hassal K. A., 1990. The biochemistry and uses of pesticides: structure, metabolism, mode of action and uses in crop protection. *VCH Publ Inc New York, USA.* 536.
45. Hemingway J., Davidson G., 1983. Resistance to organophosphate and carbamate insecticides in *Anopheles atroparvus*. *Parassit.* 25: 1-8.
46. Hemingway J., Hawkes N. J., McCarroll L., Ranson H., 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol* 34: 653-665.
47. Hemingway J., Beaty B. J., Rowland M., Scott T. W., Sharp B. L., 2006. The Innovative Vector Control Consortium: improved control of mosquito-borne diseases. *Trends Parasitol* 22: 308-12.

48. Hunt R. H., Coetzee M., Fettene M., 1998. The *Anopheles gambiae* complex: a new species from Ethiopia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 92: 231-235.
49. Hougard J. M., Corbel V., N'Guessan R., Darriet F., Chandre F., Akogbeto M., Baldet T., Guillet P., Lamizana-Traoré M., 2003. Efficacy of mosquito nets treated with insecticides mixtures and mosaics against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* in Côte d'Ivoire. *Bull. Entomol. Res* 93: 491-498.
50. Jones C. M., Liyanapathirana M., Agossa F., Weetman D., Ranson H., Donnelly J. M., Wilding C., 2011. Footprints of positive selection associated with a mutation (N1575Y) in the voltage-gated sodium channel of *Anopheles gambiae*. *Proc Natl An Sci* 109: 6614–6619.
51. Jones C. M., Toé K. H., Sanou A., Namountougou M., Hughes A., Diabaté A., Dabiré K. R., Simard F., Ranson H., 2012. Additional Selection for Insecticide Resistance in Urban Malaria Vectors: DDT Resistance in *Anopheles arabiensis* from Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *PLoS ONE* 7: 9.
52. Wai K. T., Kyaw M. P., Oo T., Zaw P. T., Nyunt M. H., Thida M., Kyaw T. T., 2014. Spatial distribution, work patterns, and perception towards malaria interventions among temporary mobile/migrant workers in artemisinin resistance containment zone. *BMC Public Health* 14: 463.
53. Lees R. S., Knols B., Bellini R., Benedict M. Q., Bheecarry A., Bossin H. C., Chadee D. D., Charlwood J., Dabiré R. K., Djogbenou L., Egyir-Yawson A., Gato R., Gouagna L. C., Hassan M. M., Khan S. A., Koekemoer L. L., Lemperiere G., Manoukis N. C., Mozuraitis R., Pitts R. J., Simard F., Gilles J. R., 2014. Improving our knowledge of male mosquito biology in relation to genetic control programmes. *Acta Trop.* 132: 2-11.
54. LeGoff G., Randimby F. M., Rajaonarivelo V., Laganier R., Léong J. M., Ceianu C. S., Duchemin J. B., Robert V., 2003. *Anopheles mascarensis* de Meillon 1947, vecteur de paludisme dans le Moyen-Ouest de Madagascar, *Arch Inst Pasteur de Madagascar*; 69 (1&2): 57-62.
55. Mabaso M. L. H., Sharp B., Lengeler C., 2004. Historical review of malarial control in southern African with emphasis on the use of indoor residual house-spraying. *Trop Med Int Health Org.* 9: 846-856.
56. Manjari M. S., Karthi S., Ramkumar G., Muthusamy R., Natarajan D., Shivakumar M. S., 2014. Chemical composition and larvicidal activity of plant extracts from *Clausena dentata* (Willd) (*Rutaceae*) against dengue, malaria, and filariasis vectors. *Parasitol Res.* 7: 2475-81.
57. Martinez-Torres D., Chandre F., Williamson M. S., Darriet F., Berge J. B., Devonchire A. L., Guillet P., Pasteur N., Pauron D., 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae s.s.* *Insect Mol Biol* 7: 179-184.

58. Massoulié J., Sussman J., Bon S., Silman I., 1993. Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Prog Brain Res* 98: 139-46.
59. Maturama F., Clark M., 1985. Investigations on the suitability of using nerve membrane fragments incorporated into artificial liposomes and a method for the study of pesticidal action on sodium channel activity. *Neurotoxicology* 6: 271-288.
60. Mosqueira B., Duchon S., Chandre F., Hougard J.M., Carnevale P., Mas-Coma S., 2010a. Efficacy of an insecticide paint against insecticide- susceptible and resistant mosquitoes - Part 1: Laboratory evaluation. *Malar J.* 9: 340.
61. Mosqueira B., Chabi J., Chandre F., Akogbeto M., Hougard J.M., Carnevale P., Mas-Coma S., 2010b. Efficacy of an insecticide paint against malaria vectors and nuisance in West Africa - Part 2: Field evaluation. *Malar J.* 9: 341.
62. Mouchet J., Carnevale P., 1997. [Impact of changes in the environment on vector-transmitted diseases]. *Cahiers ORSTOM* 7: 263-9.
63. Muller P., Warr E., Stevenson B. J., Pignatelli P. M., Morgan J. C., Steven A., Yawson A. E., Mitchell S. N., Ranson H., Hemingway J., Paine M. J., Donnelly M. J., 2008b. Field-caught permethrin-resistant *Anopheles gambiae* overexpress CYP6P3, a P450 that metabolises pyrethroids. *PLoS Genet* 4.
64. Namountougou M., Simard F., Baldet T., Diabaté A., Ouédraogo J. B., Thibaud M., Dabiré K. R., 2012. Multiple Insecticide Resistance in *Anopheles gambiae s.l.* Populations from Burkina-Faso, West Africa. *PloS ONE* 7: 11.
65. N'Guessan R., Darriet F., Guillet P., Carnevale P., Traore-Lamizana M., Corbel V., Koffi A. A., Chandre F., 2003. Resistance to carbosulfan in *Anopheles gambiae* from Ivory Coast based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase. *Med Vet Entomol* 17: 19-25.
66. N'Guessan R., Corbel V., Akogbéto M., Rowland M., 2007. Reduced Efficacy of Insecticide- treated Nets and Indoor Residual Spraying for Malaria Control in Pyrethroid Resistance Area, Benin. *Emerg. Infect. Dis* 13: 199-206.
67. N'Guessan R., Asidi A., Boko P., Odjo A., Akogbeto M., Pigeon O., Rowland M., 2010. An experimental hut evaluation of PermaNet® 3.0, a deltamethrin-piperonyl butoxide combination net, against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes in southern Benin. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 104: 758-65.
68. Pages F., Orlandi-Pradines E., Corbel V., 2007. Vectors of malaria: biology, diversity, prevention and individual protection. *Mal Infect* 37: 153-61.
69. Pennetier C., Corbel V., Hougard J. M., 2005. Combination of a non-pyrethroid insecticide and a repellent: a new approach for controlling knockdown-resistant mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 72: 739-744.

70. Pennetier C., Corbel V., Boko P., Odjo A., N'Guessan R., Lapied B., Hougard J. M., 2007. Synergy between repellents and non-pyrethroid insecticides strongly extends the efficacy of treated nets against *Anopheles gambiae*. *Malar J.* 6: 38.
71. Plapp F. W., 1984. The genetic basis of insecticide resistance in the housefly: evidence that a single locus plays a major role in metabolic resistance to insecticides. *Pestic Biochem and Phys* 22: 194-201.
72. Poinsignon A., Cornelie S., Mestres-Simon M., Lanfrancotti A., Rossignol M., Boulanger D., Cisse B., Sokhna C., Arca B., Simondon F., Remoue F., 2008. Novel Peptide Marker Corresponding to Salivary Protein gSG6 Potentially Identifies Exposure to *Anopheles* Bites. *Exposure. . PloS ONE* 3: 6.
73. Ranson H., Jensen B., Vulule J. M., Wang X., Hemingway J., Collins F. H., 2000. Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Mol Biol* 9: 491-497.
74. Ravoahangimalala R. O, Rakotoarivony H. L, LeGoff G., Fontenille D., 2003. Écoéthologie des vecteurs et transmission du paludisme dans la région rizicole de basse altitude de Mandritsara, Madagascar. *Bull Soc Pathol Exot* 96 : 323-328.
75. Robert V., Gazin., Boudin C., Molez J. F., Ouédraogo V., Carnevale P., 1985. La transmission du paludisme en zone de savane arborée et en zone rizicole des environs de Bobo-Dioulasso. *Ann. Soc. Belge Med. Trop* 65: 201-214.
76. Robert V., Ouedraogo V., Carnevale P., 1991. La transmission du paludisme humain dans un village au centre de la rizière de la Vallée du Kou, Burkina Faso. *Le paludisme en Afrique de l'Ouest* 7-17.
77. Rowland M., Boko P., Odjo A., Asidi A., Akogbeto M., N'Guessan R., 2013. A New Long-Lasting Indoor Residual Formulation of the Organophosphate Insecticide Pirimiphos Methyl for Prolonged Control of Pyrethroid-Resistant Mosquitoes: An Experimental Hut Trial in Benin. *PloS ONE* 8: 7.
78. Rugemalila J. B., Wanga C. L., Kilama W., 2006. Sixth Africa malaria day in 2006: how far have we come after the Abuja Declaration, *Malar J.* 5: 102.
79. Santolamazza F., Mancini E., Simard F., Qi Y., Tu Z., della Torre A., 2008. Insertion polymorphisms of SINE200 retrotransposons within speciation islands of *Anopheles gambiae* molecular forms. *Malar J.* 7: 163.
80. Sinka M. E., Bangs M. J., Manguin S., Coetzee M., Mbogo C. M., Hemingway J., Patil A. P., Temperley W. H., Gething P. W., Kabaria C. W., Okara R. M., Boeckel T. V., Godfray H. C. J., Harbach R. E., Hay S. I., 2010. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & Vectors*, 3: 117.

81. Tchinda G. G., Atashili J., Achidi E. A., Kanga H. L., Njunda A. L., Ndumbe P M., 2012. Impact of malaria on hematological parameters in people living with HIV/AIDS attending the Laquintinie Hospital in Douala, Cameroon. *PLoS ONE* 7: 7.
82. Toé L. P., Skovmand O., Dabiré K. R., Diabaté A., Diallo Y., Guiguemé T. R., Marie J., 2009. Decreased motivation in the use of insecticide-treated nets in malaria endemic area in Burkina Faso. *Malar J.* 9.
83. Touré Y. T., Petrarca V., Traoré S. F., Coulibaly A., Maiga H. M., Sangaré O., Sow M., Di-Decco M. A., Coluzzi M., 1998. The distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognised taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parassit* 40: 477-511.
84. Wachira S. W., Omar S., Jacob J. W., Wahome M., Alborn H. T., Spring D. R., Masiga D. K., Torto B., 2014. Toxicity of six plant extracts and two pyridone alkaloids from *Ricinus communis* against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Parasites & Vectors* 7: 312.
85. Weaver S. C., Reisen W. K., 2011. Present and Future Arboviral Threats. *NIH. Public Access* 85: 1-36.
86. Weill M., Lutfalla G., Mogensen K., Chandre F., Berthomieu A., Berticat C., Pasteur N., Philips A., Fort P., Raymond M., 2003. Comparative genomics: Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature* 423: 136-137.
87. Weill M., Malcolm C., Chandre F., Mogensen K., Berthomieu A., Marquine M., Raymond M., 2004. The unique mutation in *ace-1* giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Mol Biol* 13: 1-7.
88. White G. B., 1974. Biological effects of intraspecific chromosomal polymorphism in malaria vector populations. *Bull. World Health Org* 50: 299-306.
89. White G. B., 1985. *Anopheles bwambae* sp, a malaria vector in the Semliki Valley, Uganda, and its relationships with other sibling species of the *An. gambiae* complex (*Diptera: Culicidae*). *Syst. Entomol* 10: 501-522.
90. Zaim M., Aitio A., Nakashima N., 2000. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Med Vet Entomol* 14: 1-5.

Rapports et documents cités

91. Baldet T., 1995. Etude comparative de deux stratégies de lutte contre *Culex quiquefasciatus* Say, 1823 par *Bacillus sphaericus* Neide, 1904 dans la ville de Maroua (Nord Cameroun). *Thèse Université Montpellier II* 294p.

92. Carnevale P., Vincent R., 2009. Les anophèles Biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. IRD Éditions: Institut de Recherche pour le Développement, Marseille. *Collection Didactique*. 402p.
93. Clements A. N., 1992. Biology of mosquitoes: Development nutrition and reproduction *Chapman & Hall*. London.
94. Diabaté A., 2003. Le paludisme au Burkina Faso: étude de la transmission et répartition géographique de la résistance d'*Anopheles gambiae s.l.* aux pyréthrinoides. *Thèse de doctorat*, Montpellier 2, 123p.
95. Gentilini M., Duflo B., 1986. Médecine Tropicale. *Paris: Flammarion Médecine Science* 4th édition.
96. International center of training and medical investigations (CIDEIM)., 2003. Toxicity studies on Inesfly 5A IGR.CIDEIM, Cali (Colombia); [<http://www.cideim.org.co>].
97. MCHIP/USAID/PNLP., 2013. Rapport sur la mise en œuvre du programme de lutte contre le paludisme au Burkina Faso. *Evolution*.
98. Namountougou M, 2013. Evolution de la résistance des populations d'*Anopheles gambiae s.l.* aux insecticides dans les faciès cotonniers du Burkina Faso. *Thèse de doctorat*, université de Bobo-Dioulasso.
99. OMS., 2013. *Statistiques sanitaires mondiales*. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2013/ , Consulté le, 30 juin, 2014.
- 100.<http://revistas.labiofamcuba.com/fr/labiofam-et-l-%C2%B4afrique-luttent-pour-le-controle-de-vecteurs-des-agents-qui-transmettent-la-malaria.h>. Consulté le, 30 juin, 2014
- 101.Saphyr., 2005. Spécialiste Européen de la roténone Z.I. des Terriers – Centre F- 06600 Antibes (France).
- 102.Sidwaya.bf/quotidien N° 7536 du 6/11/2013. Consulté le, 03 juin, 2014.
- 103.World Health Organization., 1995. Vector control for malaria and other vectors-borne diseases. *Technical report Series* 857: 91p.
- 104.World Health Organization., 1998. Report of the WHO informal consultation on test procedures for insecticides on treated surfaces. WHO/CDS/CPC/MAL/98.
- 105.http://www.insd.bf/Documents/Publications/INSD/Publications/Resultats_enquetes/Autres%20enq/Rapport_preliminaire_RGPH06.pdf. Consulté le, 24 février, 2014.

VIII- ANNEXES

Annexe 1: Protocole d'extraction d'ADN au CTAB 2%

Myriam et Cécile, avril 2003

1. Broyer chaque moustique dans 200 µl de CTAB 2% ;
2. Mettre au bain marie 65°C pendant 5 minutes ;
3. Ajouter 200 µl de chloroforme – Mélanger par inversion ;
4. Centrifuger 5 minutes à 12000 rpm. à température ambiante ;
5. Prélever la phase supérieur et la mettre dans un autre tube ;
6. Ajouter 200 µl d'Isopropanol sur ce surnageant – Bien mélanger par inversion ;
7. Centrifuger 15 minutes à 12000 rpm à température ambiante ;
8. Vider l'Isopropanol, bien égoutter et ajouter 200 µl d'Ethanol 70% ;
9. Centrifuger 5 minutes, 12000, température ambiante;
10. Vider l'Ethanol et laisser au moins 20mn à température ambiante;
11. Sécher le culot 10 minutes environ au speed-vac ;
12. Reprendre dans 20 µl d'H₂O – ne pas vortexer – Laisser suspendre sur la pailleasse toute la nuit (ou une ½ journée).
13. Conserver l'ADN à -20°C pour les analyses PCR

Préparation du CTAB 2%

Réactifs	Volume	Concentration finale
1 M Tris HCl pH 8.0	100 ml	100 mM
0,5 M EDTA	20 ml	10 mM
NaCl	81,8 g	1.4 M
CTAB*	20 g	2 %
Eau distillé	QSP 1 L	

*Cetyltrimethyl ammonium bromide

Mélanger sous agitateur magnétique. Conserver à température ambiante.

Annexe 2 : Détection du gène SINE 200X 6.1 locus

PCR to analysis the insertion polymorphism of a nearly 200 bp-long Short INterpersed. Element (SINE 200) locus, within the sexual chromosome X of *Anopheles gambiae* molecular forms.

Référence: Santolamazza *et al.*, 2008

Amorces:

S200X 6.1F: TCG-CCT-TAG-ACC-TTG-CGT-TA;

S200X 6.1R: CGC-TTC-AAG-AAT-TCG-AGA-TAC

Mélange réactionnel pour l'amplification (Master mix) pour un volume final de 15 µl

Réactifs	Concentration finale	Volume à prélever
Tampon (Buffer)	5 X	3 µl
MgCl ₂	25 mM	0,6 µl
dNTP	5 mM	0,6 µl
Primer F	20 µM	0,75 µl
Primer R	20 µM	0,75 µl
Eau ultra pure		6,725 µl
Taq DNA polymérase	5 U/µl	0,075 µl
DNA template		2,5 µl

Amplification :

10' [30", 30", 60"] 35c @ 54°C

Taille des bandes attendues

An. coluzzii :

479bp (présence du gène Sine 200x 6.1)

An. gambiae, *An. melas*, *An. quadriannulatus*:

249bp (absence du gène Sine 200x 6.1)

An. arabiensis:

223bp (absence du gène Sine 200x 6.1)

Annexe 3 : Diagnostic de la mutation *kdr* de l'Afrique de l'Ouest

Polymorphisme dans un gène codant pour un canal à Sodium, associé à la résistance au DDT et aux pyréthrinoides

Référence : Martinez-Torres D *et al.*, 1998

Amorces:

- D1 ATAGATTCCCCGACCATG
- D2 AGACAAGGATGATGAACC
- D3 AATTTGCATTACTTACGACA
- D4 CTGTAGTGATAGGAAATTTA

Mélange réactionnel pour l'amplification (Master mix) pour un volume final de 15 µl

Réactifs	Concentration finale	Volume à prélever
Tampon (Buffer)	5 X	2,5 µl
MgCl ₂	25 mM	0,5 µl
dNTP	5 mM	0,5 µl
Primer D1	10 µM	0,3 µl
Primer D2	10 µM	0,3 µl
Primer D3	10 µM	1 µl
Primer D4	10 µM	1 µl
Eau ultra pure		6,35 µl
Taq DNA Polymérase	5 U/µl	0,05 µl
DNA template		2,5 µl

Amplification :

3' [30", 30", 10"] 35c @ 55°C

Taille attendue

D1/D2 : 293 bp

D1/D3 : 195 bp Résistant

D2/D4 : 137 bp Sensible

Annexe 4 : Diagnostic de la mutation *Ace-1* chez *Anopheles gambiae* s.l.

Polymorphisme dans le gène *Ace-1* qui code pour l'acétylcholine estérase Achel. La mutation se situe au niveau de l'AA 119, qui est une Gly chez les susceptibles et une Ser chez les résistants.

Référence: Weill M *et al.*, 2003

Amorces

- Ex3AGdir GATCGTGGACACCGTGTTTCG
- Ex3AGrev AGGATGGCCCGCTGGAACAG

Mélange réactionnel pour l'amplification (master mix) pour un volume final de 25 µl

Réactifs	Concentration finale	Volume à prélever
Tampon (Buffer)	5 X	5 µl
MgCl ₂	25 mM	1 µl
dNTP	5 mM	1 µl
Ex3AGdir	10 µM	1 µl
Ex3AGrev	10 µM	1 µl
Eau ultra pure		12,9 µl
Taq DNA Polymérase	5 U/µl	0,05 µl
DNA template		2,5 µl

Amplification :

3' [30", 30", 30"] 35c @ 62°C

Taille attendue

Ex3AG : 541 bp. Vérifier 5µl de produit de PCR sur gel d'agarose 1.5%

Digestion enzymatique pour une réaction de 25 µl

Réactifs	Concentration finale	Volume à prélever
Tampon (Buffer)	10 X	2,5 µl
Alu I 5 U/µl	2,5 U	0,25 µl
BSA	10 µM	0,25 µl
Produit PCR		10 µl
Eau ultra pure		12 µl

Incuber à 37°C pendant 3 heures, voire toute la nuit. Vérifier la réaction en faisant migrer 10µl de la digestion sur un gel d'agarose 2%

Génotypes	SS	RR
Tailles	403 bp	253 bp
	138 bp	150 bp
		138 bp

Evaluation en pré-phase III de l'efficacité d'une peinture insecticide contre les populations d'*Anopheles gambiae* s.l. résistantes aux pyréthriinoïdes à la Vallée du Kou, Burkina Faso.

De nos jours, la lutte antivectorielle est confrontée à l'émergence de la résistance des vecteurs aux insecticides et à des difficultés opérationnelles sur le terrain. Il s'avère nécessaire de rechercher des solutions alternatives et innovantes pour une meilleure gestion des populations de vecteurs résistants aux insecticides. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité entomologique d'une peinture insecticide en zone de résistance d'*An. gambiae* s.l. aux pyréthriinoïdes. Cette peinture insecticide est composée de deux organophosphorés et d'un inhibiteur de croissance. Elle a été appliquée en une ou deux couches sur les murs et/ou sur les plafonds. L'évaluation a consisté à mesurer et à comparer les paramètres entomologiques suivants entre les traitements: i) l'efficacité de la peinture par les captures en faune résiduelle, ii) la rémanence de cette efficacité grâce aux tests cônes OMS assurés avec la souche sensible «Kisumu» d'*An. gambiae* et la souche «sauvage» résistante aux pyréthriinoïdes et iii) le diagnostic des gènes de résistance. Les résultats obtenus après six mois d'application montrent que le produit reste très rémanent et efficace avec 98 à 100% de mortalité. Les collectes matinales réalisées tous les mois indiquent que tous les moustiques collectés ont été tués par la peinture (100% de mortalité) de Juin à Décembre 2013. La fréquence globale de la mutation *kdr-L1014F*, principal mécanisme de résistance d'*An. gambiae* s.l. aux pyréthriinoïdes a été très élevée avec 98%, confirmant le statut de résistance qui a été observé dans ce faciès. Celle de l'*Ace-1^R* était inférieure à 2%. Ces fréquences ne différaient pas entre les maisons témoins et les maisons traitées, confirmant que cette peinture ne sélectionne pas de résistance à ces deux classes d'insecticides. Les résultats montrent que cette peinture est très efficace pour contrôler les populations résistantes d'*An. gambiae* s.l. De plus, son application ne requiert pas de personnel qualifiés ni d'équipements spéciaux. Ces atouts en font un outil qui pourrait être utilisé de façon intégrée contre les vecteurs résistants aux pyréthriinoïdes et aux carbamates. Il serait donc intéressant d'évaluer à l'échelle communautaire l'efficacité de cette peinture et son acceptabilité par la population.

Mots-clés: peinture insecticide, *Anopheles gambiae* s.l., efficacité, Burkina Faso.

Evaluating the efficacy of insecticide paint against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* s.l. in Vallée du Kou, Burkina Faso.

Vector control is currently challenged by the quick spread of insecticide resistance among mosquito and operational difficulties on the field. Thus, it is necessary to find alternative and innovative strategies to better adapt effective control. In the current study we evaluated the efficacy of organophosphate-combined paint containing insect growth regulator in indoor application on the walls and/or ceiling in Vallée du Kou where *An. gambiae* are resistant to pyrethroids. The main entomological parameters such as mortality rates and paint insecticidal residual efficacy were compared between treated and untreated huts. The residual insecticidal efficacy of the paint tested both with the susceptible *An. gambiae* "Kisumu" and wild local populations of *An. gambiae* s.l. showed high mortality rates ranging between 98 to 100% six months after the treatment. The indoor collections of wild *An. gambiae* performed during four consecutive days per month from June to December 2013 revealed that all mosquitoes entering in the paint-treated houses were died (i.e 100% mortality rates throughout the six months collection). The frequency of *kdr-L1014F* (98%) mutation which was high in this area did not differ between treatments. That of the *Ace-1^R* remained less than 2% and did not differ among the treatment. These results are very promising in terms of new perspectives to control resistant malaria vectors. In contrast to the classic indoor sprays, this tool is very simple and does not require any special equipment or qualified personnel. But a large-scale assay is required to address its impacts on malaria transmission and the perception and acceptability of targeted human communities.

Key-words: insecticide paint, *Anopheles gambiae* s.l., efficacy, Burkina Faso.