

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

N° d'ordre



FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
Laboratoire d'Entomologie Appliquée

et
Laboratoire de Parasito-Entomologie
du Centre MURAZ, Bobo-Dioulasso

THESE

Présentée à l'Université de Ouagadougou pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE 3^{ème} CYCLE
Spécialité: Sciences Biologiques Appliquées
Option: Biologie et Ecologie Animales

par:

DIABATE Abdoulaye

**EVALUATION DE LA RESISTANCE DES VECTEURS DU PALUDISME
VIS-A-VIS DES PYRETHRINOIDES AU BURKINA FASO**

Soutenue le 27 Mai 1999

Devant le Jury constitué de:

Président: M. GUIGUEMDE Tinga. Robert. Professeur à l'Université de Ouagadougou

Membres: M. OUEDRAOGO Albert Patoin, Maître de Conférences à l'Université de Ouagadougou
M. DAKOUO Dona, Maître de Recherches à l'INERA/Farako-Bâ, CNRST
M. CHANDRE Fabrice. Attaché de recherches à l'IPR de Bouaké, Côte d'Ivoire

A tous ceux qui ont perdu un proche
A tous ceux qui souffrent
A tous ceux qui souffrent de la souffrance d'un des leurs
A cause du Paludisme

Je suis de coeur avec eux

REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé dans le cadre des activités de recherches menées au Centre Muraz (OCCGE, Bobo-Dioulasso) et au Laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN) du Centre ORSTOM de Montpellier. Il a bénéficié du soutien financier d'organismes tels que, le Fond d'Aide et de Coopération (FAC), le Ministère des Enseignements Secondaires, Supérieurs et de la Recherche Scientifique du Burkina, l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD/France) en la personne de Mr. Bernard PHILIPPON et L'AUPELF-UREF au travers les personnes de Mr Michel GUILLOU et de Nathalie BENDBIKO. Je voudrais par ma voix, aux noms de tous les étudiants bénéficiaires, vous exprimer notre profonde gratitude.

Dans l'aboutissement normal de tout travail, il y a l'argent et il y a les hommes. Ils sont nombreux ceux qui m'ont prêté une oreille attentive et qui se sont réellement investis afin que ce travail voit le jour. Que leur dire?

A Monsieur GUIGUEMDE T. Robert, responsable du Laboratoire de Parasito/Entomologie du Centre Muraz. Vous m'avez accepté dans votre laboratoire et avez accordé un intérêt particulier au déroulement de ce travail. C'est tant d'honneurs que d'avoir accepté de codiriger et de présider cette thèse. J'ai largement bénéficié de votre longue expérience dans le domaine de la recherche et ai beaucoup apprécié votre rigueur dans la recherche de l'infiniment parfait. Vos efforts ne sont pas et ne seront jamais vains.

A Monsieur GUILLET Pierre, responsable du Laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN/Montpellier) et Directeur scientifique de ce travail. Je vous suis infiniment gré de m'avoir accueilli dans votre laboratoire pour une partie de ce travail et d'avoir accepté de diriger cette thèse. Vos qualités de chercheur m'ont permis de bénéficier largement de votre expérience dans le domaine de la lutte antivectorielle et de la résistance. Toutes les fois que nous nous sommes rencontrés, vous avez su insuffler en moi une énergie constructive qui tient tant à votre dynamisme qu'à vos qualités humaines. Vous êtes de ceux qu'on oublie pas.

A Monsieur OUEDRAOGO P. Albert, responsable du laboratoire d'entomologie de l'Université de Ouagadougou. Vous avez guidé mes premiers pas dans le domaine de la recherche en acceptant déjà de diriger à l'époque mon travail de DEA. C'est aussi en partie sous votre impulsion que cette thèse a été initiée. Je

vous suis gré d'avoir accepté de la codiriger et vous remercie pour vos conseils multiples et vos critiques très constructives.

Au Président, à tous les Membres du jury et au Rapporteur:

Mr. GUIGUEMDE T. Robert, Professeur, Président du jury
Mr. OUEDRAOGO P. Albert, Maître de Conférence, Membre du jury
Mr. DONAN Dakouo, Maître de Recherche, Membre du jury
Mr. CHANDRE Fabrice Attaché de recherche, Membre du jury

Mr. AKOGBETO Martin, Maître de Conférence à l'Université Nationale du Bénin, Rapporteur

Merci de m'avoir fait l'honneur de bien vouloir juger ce travail malgré vos diverses occupations professionnelles

Au Docteur OUEDRAOGO J. Bosco, Maître de Recherche
A Monsieur Philippe VAN DE PERRE, directeur du Centre Muraz
Au Docteur BALDET Thierry, Entomologiste pour le compte de la Coopération Française au Centre Muraz. Je vous suis infiniment reconnaissant pour vos multiples conseils et efforts déployés afin de m'assurer une formation complète d'entomologiste moderne

A

CHANDRE Fabrice
MANGUIN Sylvie
KENGNE Pierre
BRENGUES Cécile
DUCHON Stéphane
FINOT Luc
MALIVERT Michel
TI A HING José
BOUCHARINC Didier

Je ne saurai passer sous silence l'accueil fraternel et l'impulsion que vous avez donnée à ce travail en m'accueillant à Montpellier. Mon intégration rapide au sein de l'équipe tient à la qualité des rapports humains que chacun de vous a su entretenir avec moi.

A

SANOU Mamourou
TRAORE Dominique
DA Alain
KABEROU Tahirou
HIEN Patrice
BICABA Augustin
ZOUNGRANA Sougrinoma
SANOU Alain

COULIBALY J. Baptiste

Recevez l'expression de ma gratitude pour m'avoir beaucoup aidé dans la partie terrain de ce travail

A toutes les personnes ici citées, je voudrais encore une fois vous dire Merci. Est-ce suffisant? Non, j'en suis conscient. Le mot n'est pas assez expressif. Je n'ai d'autres mots pour vous remercier que ceux inventés par les Hommes, mais mon coeur exprime plus.

Liste des abréviations utilisées

AChE	Acétylcholinestérase
CNaVdp	Canal Sodium Voltage dépendant
DDT	Dichloro diphényl trichloroéthane
GABA	Gama aminobutyric acid
GST	Glutathion S-Transferase
IT50	temps de contact au bout duquel 50% des moustiques effectuent leur 1er envol
kdr	knock down resistance
kdT50	temps de contact entraînant un effet knock down de 50% des moustiques
PCR	Polymerase Chain Reaction
pb	paire de bases

SOMMAIRE

	pages
I INTRODUCTION	1
II.GENERALITES	5
2.1. LE BURKINA FASO	5
2.1.1.Relief et hydrographie.....	5
2.1.2.Climat et pluviométrie.....	5
2.1.3.Population.....	6
2.2.Classification et biologie des Culicidés	6
2.2.1.Classification.....	6
2.2.2.Biologie d' <i>An. gambiae</i> s.l.....	9
2.2.2.1.Oeufs.....	9
2.2.2.2.Larves.....	12
2.2.2.3.Nymphes.....	13
2.2.3.Les adultes:émergence, accouplement et cycle gonotrophique.....	13
2.2.4.Différences morphologiques entre le genre <i>Anopheles</i> et les autres genres.....	15
2.2.5.Cycle sporogonique du parasite chez l'anophèle et transmission.....	17
2.3.Composantes de la lutte antivectorielle	17
2.3.1.Aménagement de l'environnement.....	21
2.3.2.Lutte biologique contre les vecteurs.....	22
2.3.3.Lutte génétique.....	23
2.3.4Lutte chimique.....	24
i.Les organochlorés (OC).....	24
ii.Les organophosphorés (OP).....	25
iii.Les Carbamates.....	26
iv.Les pyrétrinoïdes naturelles et synthétiques.....	26

a. Naturelles.....	26
b. Synthétiques.....	27
* La perméthrine.....	27
2.4.Les mécanismes de la résistance des vecteurs.....	28
2.4.1.Pénétration réduite.....	29
2.4.2.Détoxification.....	29
i.Les estérases.....	29
ii.Les oxydases.....	30
iii.Les glutathion S-transferases (GST).....	30
2.4.3.Modification de la cible.....	30
i.L'acétylcholinestérase (AChE).....	31
ii.Les recepteurs GABA (gamma-aminobutyric acid).....	31
iii.La résistance du type Kdr (Knockdown resistance).....	31
2.4.4.La résistance comportementale.....	32
2.5.Les facteurs de sélection de la résistance aux insecticides sur le terrain.....	32
2.5.1.La culture du coton au Burkina Faso.....	32
i.L'historique de la culture du coton.....	32
ii.L'aire cotonnière.....	33
iii.Le traitement phytosanitaire du cotonnier.....	33
2.5.2.Les périmètres irrigués.....	36
2.5.3.Lutte contre les nuisibles.....	37
2.6.Les Matériaux Imprégnés d'Insecticide dans la lutte contre le paludisme.....	38
3.Revue de littérature sur la resistance des vecteurs.....	39
4.OBJECTIFS.....	40

5.MATERIELS ET METHODES/RESULTATS	41
5.1.Zone d'étude	42
i.Zone cotonnière.....	42
ii.Zone rizicole.....	44
iii.Zone urbaine.....	45
iv.Zone contrôle.....	46
5.2.Récolte des moustiques dans la nature	46
5.2.1.Recherche des larves d'anophèles.....	46
5.2.2.Elévation des moustiques récoltés en insectarium.....	47
5.3.Analyse statistique	48
5.4.Mesure de la sensibilité des moustiques aux insecticides	48
5.4.1.Test de sensibilité avec les papiers imprégnés.....	48
5.4.2.Test de sensibilité avec le tulle moustiquaire.....	53
5.5.Test d'irritabilité	55
5.6.Test de répulsivité	57
5.7.Recherche du gène kdr et répartition du complexe <i>An. gambiae</i>	59
6.RESULTATS	61
6.1.Test de sensibilité avec les papiers imprégnés	62
i.Souche de référence, "Kisumu".....	62
ii.Sensibilité des souches de la zone cotonnière.....	65
iii.Sensibilité des souches de la zone rizicole.....	75
iv.Sensibilité des souches de la zone urbaine.....	77
v.Sensibilité des souches de la zone contrôle.....	81
6.2.Mesure de l'efficacité des tissus imprégnés	84
6.3.Test d'irritabilité	85

6.4. Test de répulsivité.....	88
6.5. Recherche du gène kdr et répartition du complexe <i>An. gambiae</i>.....	90
VII. DISCUSSION.....	93
VIII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	104
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXES	

I.INTRODUCTION

Le paludisme est sans doute la plus importante des affections transmises par les insectes. Près de 2 milliards de personnes (34% de la population mondiale) vivent dans les zones où le paludisme endémique sévit ou réapparaît. Son histoire se confond avec celle de l'humanité. De l'*Homo sapiens* à l'Homme moderne du 21ème siècle, le paludisme a traversé le temps et derrière lui, s'accumulent des centaines de millions de morts (Gentilini, 1991). Plus de 5 millions de cas ou davantage ont été enregistrés en 1988, contre moins de 300 000 dix ans plus tôt. Quatre ans plus tard, en 1993, l'Organisation Mondiale de la Santé, dans son rapport "A global strategy for Malaria control", chiffrait les cas cliniques de paludisme à travers le monde entre 300 et 500 millions. Plus de 80% de ces cas proviendraient de l'Afrique. Les faciès épidémiologiques de la maladie sont variés au point qu'on parle désormais de "paludismes" et cette diversité des faciès nécessite l'adoption d'une stratégie au cas par cas.

Dans les années 1950, l'Organisation Mondiale de la Santé avait défini une stratégie d'éradication de la maladie qui a obtenu dans les zones de paludisme stable, des résultats très limités et aujourd'hui encore, le paludisme est et demeure la première cause de mortalité en Afrique avec un nombre de décès estimé à plus d'un million par an. Aujourd'hui, les objectifs visés sont moins ambitieux. Ils visent essentiellement à contrôler la maladie, (diminution de la morbidité et de la mortalité palustres). Les moyens pour atteindre cet objectif concernent essentiellement la détection précoce et le traitement des cas cliniques ainsi que la prévention. Les méthodes de prévention préconisées au plan entomologique, sont basées sur la lutte contre les vecteurs (réduction du contact Homme/vecteur).

Le volet entomologique est une composante importante de lutte antipaludique. Un programme ambitieux d'éradication du paludisme dans les années 1950 en Europe du Sud a conduit à des résultats spectaculaires (Coluzzi, 1992), à porter au compte d'une stratégie de lutte intégrée prenant en compte:

- l'amélioration de l'habitat,
- la séparation des habitats hommes/animaux,
- la lutte antivectorielle
- l'accès aux soins,
- la prise en charge systématique des cas.

Ces différentes stratégies de lutte mises en oeuvre dans le passé ont connu des succès divers. La lutte antivectorielle par l'utilisation des Matériaux Imprégnés d'Insecticide (MII) au cours des dix dernières années, a montré qu'on pouvait en Afrique, réduire la morbidité de 50 à 60% et la mortalité de 20% (Alonso *et al.*, 1991, Alonso *et al.*, 1993, U. D'Alessandro *et al.*, 1995, Binka *et al.*, 1996). Cette méthode de lutte basée sur la participation active des communautés présente un rapport coût/efficacité acceptable. L'OMS recommande désormais aux états d'intégrer leur utilisation dans les plans nationaux de lutte contre le paludisme.

Si les MII permettent d'espérer qu'environ 500 000 enfants africains pourront être sauvés chaque année, il n'en demeure pas moins que la rationalisation de cette méthode de lutte en vue d'en tirer le meilleur profit se trouve confrontée à de multiples problèmes dont la faisabilité et la durabilité. Se pose également le problème de la résistance des vecteurs aux insecticides utilisés.

La résistance à la dieldrine est apparue dès les premiers traitements (Mouchet, 1988). Elle semble avoir été induite par l'agriculture et concerne l'Afrique (même si la lutte antivectorielle contre le paludisme peut avoir contribué ici ou là à l'augmentation de la résistance chez *An. gambiae*). Pour le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), le premier cas de résistance en Afrique a été publié en 1967, soit environ 7 ans après l'arrêt des campagnes pilotes (Hamon and Garrett-Jones, 1963, Hamon *et al.*, 1968). Là encore, il s'agit sans aucun doute possible d'une résistance induite par l'utilisation massive du DDT sur le coton. Cette résistance ne concerne que l'Afrique de l'Ouest. En Afrique du Sud, à Madagascar, et dans d'autres régions du monde (Thaïlande, Amérique du Sud) malgré des décennies d'utilisation continue du DDT en pulvérisation intradomiciliaire, aucune baisse de sensibilité bien documentée n'a été observée jusqu'à ce jour (Mouchet, 1988). Mis à part un cas particulier au Soudan, *An. gambiae* est resté sensible aux organophosphorés (OP) et aux carbamates dans toute l'Afrique. Ces insecticides sont pour la plupart soit non biodégradables, ou présentent des rapports coût/efficacité non intéressants dans les régions fortement impaludées et ne peuvent malheureusement pas être appliqués aux moustiquaires. Seuls les pyréthrinoïdes sont utilisés en imprégnation des moustiquaires et des rideaux.

Depuis les années 1970, les pyréthriinoïdes ont été largement utilisés en zone urbaine comme bombes aérosols et même dans les campagnes en agriculture. Dans les 2 cas, la pression de sélection exercée sur *An. gambiae* s.l. n'est pas négligeable. Le premier cas de résistance aux pyréthriinoïdes d'*An. gambiae* s.s. a été signalé à Bouaké en Côte d'Ivoire (Elissa *et al.*, 1993). Une réduction de la sensibilité a été signalée au Kenya mais n'a pas été confirmée nettement sur le terrain (Vululé *et al.*, 1994, Vululé *et al.*, 1996). Par contre un système de surveillance en Gambie où les MII ont été largement utilisés n'a révélé aucun changement dans la sensibilité des vecteurs vis-à-vis des pyréthriinoïdes (Hemingway *et al.*, 1995).

Au Burkina Faso, les MII ont été retenus par le programme national de lutte contre le paludisme. Mais un foyer de résistance aux pyréthriinoïdes a été signalé à la Vallée du Kou, zone rizicole, au sud-ouest du pays (Chandre *et al.*, 1999). Dans un pays comme le Burkina Faso, essentiellement agricole, l'usage intensif des insecticides, notamment des pyréthriinoïdes, accroît le risque de développement d'une résistance. Ceci est particulièrement vrai dans les zones rizicoles, les zones cotonnières et les centres urbains où l'usage de bombes aérosols est courant. Dans le cadre de la relance de l'économie, le gouvernement Burkinabè a initié des projets visant à installer les jeunes dans leurs terroirs en créant des périmètres irrigués à différents endroits du pays. Ces périmètres, du fait d'un système cultural continu, connaissent une application répétée d'insecticides favorable à l'apparition des souches résistantes. Il est donc important avant de vulgariser les MII sur le terrain dans ces régions du pays, de faire le point sur la résistance aux pyréthriinoïdes et d'apprécier son étendue géographique.

II.GENERALITES

2.1.BURKINA FASO

2.1.1.Relief et hydrographie

Le Burkina Faso est un pays plat. L'écart entre les altitudes extrêmes est inférieur à 600 mètres (Laclavère *et al.*, 1993). L'altitude moyenne ne dépasse pas 400 mètres et près de la moitié du pays se situe entre 250 et 350 mètres. Cependant la platitude d'ensemble n'exclut pas une certaine variété. Le relief est marqué dans les régions situées à l'Ouest et à l'Est où la monotonie est rompue par des escarpements gréseux évoluant en falaises et par les reliefs ruiniformes des secteurs de Sindou et de Gobnangou.

Le Burkina Faso a un réseau hydrographique important surtout dans sa partie méridionale. Les cours d'eau se rattachent à 3 bassins principaux: les bassins de la Volta, de la Comoé et du Niger. Le bassin de la Volta est le plus important. Il s'étend à l'Ouest et au Centre du pays sur une superficie de 120 000 km². Il est constitué de 3 sous-bassins majeurs: ceux du Mouhoun, du Nakambé et de la Pendjari.

2.1.2.Climat et pluviométrie

Le Burkina Faso est un pays intertropical à caractère soudano-sahélien nettement marqué. Le découpage de l'année en saison se caractérise par l'alternance d'une saison sèche dont la longueur varie de 8 mois au nord à 5 ou 6 mois au sud et d'une saison humide ou hivernage, de mai à octobre au sud, de juin à septembre au nord, avec des inter-saisons plus ou moins marquées (Laclavère *et al.*, 1993). Le pays se divise en 3 régions climatiques.

-La zone soudanienne ou zone sud-soudanienne délimitée au nord par l'isohyète 900 mm. Elle occupe tout le sud et est la partie humide du pays avec une saison des pluies qui dure 6 mois et des maxima de hauteur de pluie pouvant aller jusqu'à 1 300 mm par an et même plus.

-La zone soudano-sahélienne comprise entre les isohyètes 900 et 600 mm. Elle s'étale sur tout le centre et constitue la zone climatique la plus vaste du Burkina Faso (la moitié de la superficie du pays) avec une saison des pluies de 4 à 5 mois.

-La zone sahélienne qui représente environ 25% de la superficie du pays est délimitée au sud par l'isohyète 600 mm. C'est la région climatique la plus sèche avec des

pluviométries pouvant descendre en dessous de 150 mm et une saison des pluies parfois inférieure à 2 mois.

Les températures mensuelles moyennes dépassent rarement 35°C et les extrêmes se rencontrent généralement au nord du pays avec une maximale pouvant atteindre par moments 45°C (Laclavère *et al.*, 1993).

2.1.3. Population

D'une superficie de 274 200 km², le recensement général de la population effectué en décembre 1985 donnait au Burkina Faso 7 964 705 habitants regroupés dans 7 132 localités (Laclavère *et al.*, 1993). Un nouveau recensement effectué en 1996 dont les résultats précis ne sont pas encore disponibles donnerait environ 10 millions d'habitants. Cette population présente des disparités notables dans la répartition avec plus de 50% regroupés sur le plateau central peuplé de mossi. Le Nord du pays est peuplé par les peulhs, le Sud et l'Ouest étant peuplés par une kyrielle d'ethnies. La langue officielle est le Français et 3 autres langues nationales sont parlées. Il s'agit du Dioula, du Mooré et du peulh.

La forte pression humaine exercée sur les terres agricoles les épuise et tend à les dégrader. Ces zones deviennent alors zones de départ de migrants vers des terres d'accueil moins peuplées et aussi vers les pays étrangers. Les chiffres officiels font état d'un million environ de Burkinabè émigrés dans les pays voisins. Ce chiffre est sans doute largement sous estimé. L'émigration se fait surtout vers la Côte d'Ivoire, le Gabon et certains pays limitrophes comme le Togo.

2.2. CLASSIFICATION ET BIOLOGIE DES CULICIDAE

2.2.1. Classification

Les Familles des *Culicidae* regroupent l'ensemble des insectes connus sous le nom de moustiques. Les moustiques sont de petits insectes de 8 à 10 mm de long au corps fusiforme et aux pattes grêles. Ils appartiennent à l'ordre des Diptères et à la famille des *Culicidae*. Cette famille est composée de 3 sous familles, (tableau 1):

- la sous famille des *Anophelinae* (3 genres)
- la sous famille des *Toxorhynchitinae* (1genre)
- la sous famille des *Culicinae* (33 genres).

Les *Anophelinae* incluent les membres du genre *Anopheles* aussi bien que le petit et probablement primitif genre *Bironella* et le genre *Chagasi*. Les *Bironella* sont les seuls parmi les Culicidés à posséder 4 paires de chromosomes alors que tous les autres n'en ont que 3. La sous famille des *Toxorhynchitinae* regroupe moins de 70 espèces. Ce sont d'assez grands moustiques, non hématophages dont les larves sont carnivores (Gwadz et Collins, 1996). Elles s'attaquent aux larves aquatiques des autres insectes, principalement à celles des autres moustiques. La sous famille des *Culicinae* est de loin la plus importante avec près de 3 000 espèces. La plupart sont des hématophages bien qu'une petite fraction d'entre elles ait par la suite perdu cette capacité et que certaines d'entre elles peuvent se reproduire de façon facultative sans aucun repas de sang (espèces autogènes).

La famille des *Culicidae* regroupe 37 genres et environ 3 200 espèces dans le monde. Seul le genre *Anopheles* est vecteur de l'agent responsable du paludisme humain. Il existe environ 400 espèces d'anophèles, mais seulement une soixantaine d'entre elles peuvent être considérées comme vecteurs et une trentaine comme de bons vecteurs (Rodhain et Perez, 1985).

Tableau 1 Cadre taxonomique de la famille des *Culicidae* (dans Paludisme, 1991)

ordre	famille	sous-famille	genres
		Anophelinae	3 genres: <i>Anopheles</i> <i>Chagasia</i> <i>Bironella</i>
<i>Diptera</i>	<i>Culicidae</i>	<i>Culicinae</i>	33 genres: <i>Aedes</i> , <i>culex</i> , <i>Mansonia</i> , <i>Coquillettidia</i> , <i>Culiseta</i> , <i>Haemagogus</i> , <i>Psorophora</i> , <i>Sabethes</i> , <i>Eretmapodites</i> , <i>Opifex</i> , <i>Wyeomyia</i> etc
		<i>Toxorhynchitinae</i>	1 genre <i>Toxorhynchites</i>

An. gambiae sl. est le meilleur vecteur de paludisme en Afrique intertropicale. Elle est formée par un complexe de 6 espèces jumelles. *An. gambiae* et *An. arabiensis* sont les plus anthropophiles et les meilleurs vecteurs de paludisme. Globalement, *An. gambiae* occupe majoritairement la zone de forêt et de savane humide et les savanes sèches du Mali et du Burkina Faso. Cette espèce vit en sympatrie avec *An. arabiensis* dans la quasi totalité de la zone afrotropicale non méridionale (carte n°1). Ces espèces se développent dans les collections d'eaux stagnantes, temporaires, peu profondes, ensoleillées et faiblement chargées en matières organiques (Christie, 1959). *An. quadrimaculatus* est strictement rencontrée en Ethiopie et dans l'est de l'Afrique méridionale. Les larves de ces 3 espèces vivent en eau douce. Quant aux 3 autres espèces, les larves de 2 d'entre elles, *An. melas* et *An. merus*, vivent en eau saumâtre respectivement sur le littoral ouest et est de l'Afrique. Les larves d'*An. bwambae* vivent dans les sources d'eau minérale de la forêt de Semliki en Ouganda (White, 1985). Ces 3 dernières espèces sont allopathriques entre elles, mais vivent en sympatrie à la fois avec *An. gambiae* et/ou *An. arabiensis* (Bryan et al., 1987). Chacune de ces espèces est manifestement protégée par d'efficaces mécanismes d'isolement reproductif. Ces mécanismes ne sont pas encore formellement identifiés, mais sont certainement relatifs à des composantes éthologiques, agissant avant la copulation (Coluzzi

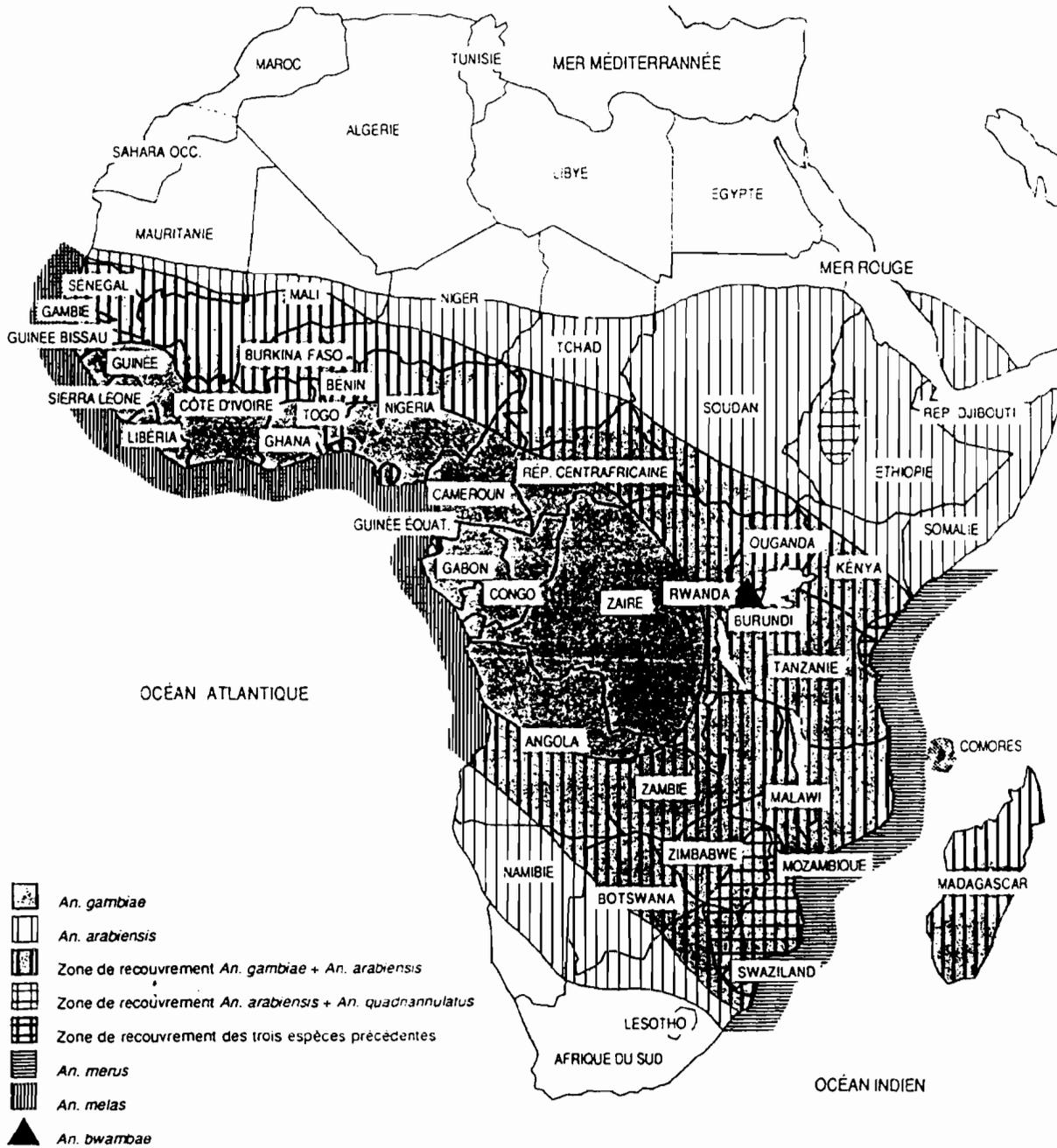
et al., 1985). Les analyses cytogénétiques portant sur le caryotype d'inversion chromosomique ont montré que *An. gambiae* ss est constituée de plusieurs populations appelées "formes chromosomiques" (Coluzzi *et al.*, 1985, Petrarca *et al.*, 1987). Il s'agit de la forme Mopti, Bamako, Savane, Forêt et Bissau. Au Burkina Faso, 2 de ces formes chromosomiques sont rencontrées (Mopti et Savane). Ces 2 formes coexistent à des proportions variables en relation avec les conditions climatiques et écologiques du milieu (Robert, 1989).

2.2.2. Biologie d'*Anopheles gambiae* s.l.

Les moustiques sont des insectes holométaboles. Leur cycle de développement est marqué par une phase préimaginale aquatique (oeufs, larves, nymphes) et une phase adulte terrestre (fig 1).

2.2.2.1. Les oeufs

Tous les moustiques, exceptés les membres du genre *Toxorhynchites*, ont la même base de développement. En général entre 50 et 200 oeufs sont pondus à chaque cycle de ponte par la femelle. Les oeufs d'anophèles, de 0.6 à 0.8 mm de long, sont de forme incurvée et munis de flotteurs latéraux remplis d'air. Ils sont en général déposés directement à la surface de l'eau, sur la boue humide ou dans de petites poches d'eau telles que les empreintes de sabots des animaux. L'éclosion a lieu en général au bout de 36 à 48 heures et quelques fois les larves peuvent rester à l'état quiescent dans des oeufs non éclos sur la boue humide pendant plus de 2 semaines, permettant ainsi à la population de survivre durant les périodes où les pluies sont irrégulières. Cependant une absence prolongée de la pluie ne saurait favoriser leur éclosion, car en aucun cas, l'oeuf ne résiste à la dessiccation.



Carte 1. Répartition des espèces du complexe d'*Anopheles gambiae* en Afrique
 (D'après Mouchet J et Carnevale P dans *Paludisme*, 1991)

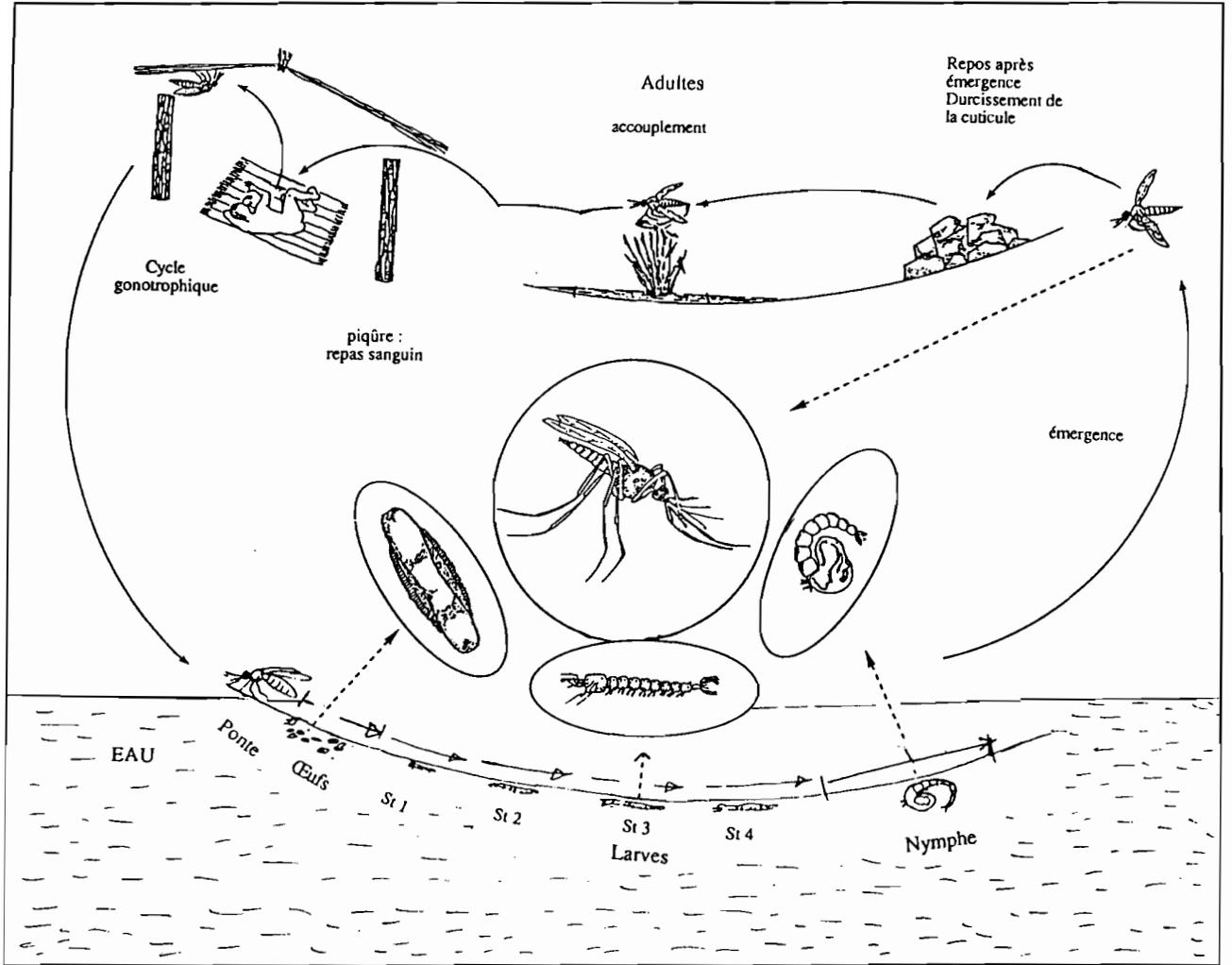


Figure 1. Cycle biologique de l'anophèle
 (D'après Mouchet J et Carnevale P dans *Paludisme*, 1991)

Chez une seule espèce, *An. anthropophagus*, en Chine, on observe une diapause des oeufs, qui, pondus à la surface de l'eau, en automne, n'éclosent qu'au printemps.

2.2.2.2. Les Larves

A l'éclosion des oeufs, les larves ne mesurent que 1 à 2 mm. Elles subissent 3 mues avant d'atteindre le stade IV où elles mesurent alors de 12 à 15 mm. Ces larves n'ont ni pattes ni organe de fixation et ne peuvent vivre par conséquent que dans des eaux calmes, sous peine d'être emportées par le courant. Leur vie est exclusivement liée à l'eau. Elles sont toutes détritiphages et se nourrissent près de la surface de l'eau. Elles doivent remonter en surface pour respirer l'air atmosphérique par leurs spiracles dorsaux et plongent à l'approche d'un danger. Si la surface du plan d'eau est recouverte d'un film continu de végétation ou de produit chimique ou bien si elle est continuellement agitée par des vaguelettes, les larves ne peuvent plus respirer et meurent.

La durée de développement larvaire est très variable et les adultes qui en émergent sont fortement tributaires de la quantité et de la qualité de nutriments que les larves auront absorbé tout au long de leur cycle. *An. gambiae* s.l. accomplit son développement larvaire en moins de 10 jours dans des mares temporaires ensoleillées où la température de l'eau dépasse 30°C. Elles se développent généralement plus vite que les prédateurs contre lesquels elles n'ont pas de protection. D'autres espèces, comme *An. funestus*, accomplissent leur cycle en 20 ou 30 jours, car elles se développent dans des collections d'eau ombragées où la végétation aquatique dressée leur fournit un abri contre les prédateurs.

Le développement des larves dans leur milieu naturel peut être perturbé par un certain nombre de facteurs dont les mouvements de l'eau et la pollution. Dans les cours d'eau, les larves de certaines espèces se tiennent dans les anses abritées ou dans les empreintes de pas en bordure de la collection d'eau principale à l'abri du courant. Les rejets organiques, aussi bien que les détergents ou les produits chimiques, inhibent le développement des anophèles alors que le *Culex quinquefasciatus* supporte très bien la pollution organique et les détergents, ce qui explique sa prolifération en milieu urbain.

2.2.2.3. Les Nymphes

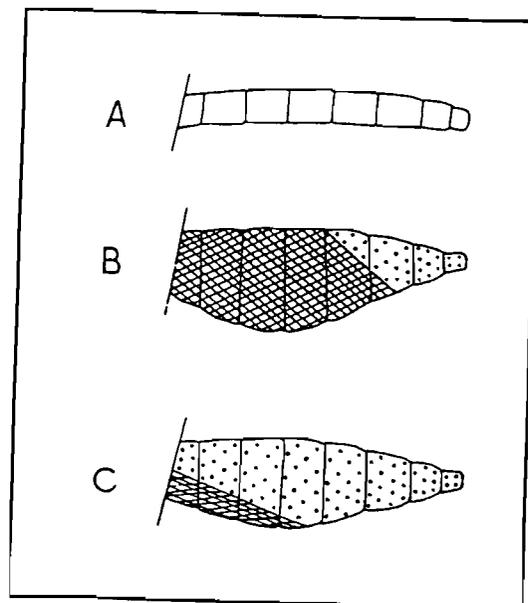
Le développement préimaginal comporte 4 stades larvaires et un stade nymphal aquatiques. Cette dernière phase aquatique intervient à la fin du 4ème stade larvaire. La cuticule des larves se fend dorsalement et laisse échapper une nymphe. Celle-ci est très mobile, ne se nourrit pas et respire par des trompettes situées sur le céphalothorax. Pendant la période nymphale, l'insecte subit de profonds remaniements morphologiques et l'adulte est préformé à la fin de ce stade. L'émergence des adultes intervient au bout de 48 heures et a lieu en général la nuit.

2.2.3. Les adultes: émergence, accouplement et cycle gonotrophique

La biologie de l'adulte est orientée avant tout vers la fonction de reproduction, qui requiert à la fois des comportements et une nutrition appropriés. Le tégument de la femelle se durcit 12 à 24 heures après l'émergence pendant que les organes de reproduction évoluent vers la maturité sexuelle. Le temps nécessaire pour atteindre celle-ci est de 3 jours chez le mâle. Mâles et femelles volent alors et vont à la recherche d'un repas de jus sucré (nectar des fleurs, fruits en décomposition etc). Ce repas doit leur permettre de couvrir leurs besoins énergétiques. A ce stade de leur développement, la plupart des moustiques essaient au crépuscule. En général ce sont les mâles qui essaient les premiers et les femelles suivent à l'intérieur de l'essaim pour se faire féconder. Cet aspect précis du comportement sexuel d'*An. gambiae* s.l. sauvage est mal documenté, même si le comportement de cette espèce a été bien étudié en laboratoire.

Au laboratoire et probablement aussi sur le terrain, les mâles commencent à devenir actifs au coucher du soleil. L'antenne devient réceptive au bruit du vol de la femelle. Un organe sensoriel situé à la base de l'antenne et dénommé, organe de Johnston, perçoit ce bruit. Le mâle est ainsi attiré par la femelle et l'accouplement a lieu pendant le vol. La femelle n'est fécondée qu'une fois dans sa vie mais les mâles peuvent s'accoupler plusieurs fois (Craig 1967). Les spermatozoïdes sont stockés dans un réceptacle, la spermathèque, et sont relargués lors de chaque ponte. Les ovules sont fécondés lors de leur passage dans l'oviducte.

A l'émergence, les ovocytes sont peu développés. Ils évolueront progressivement jusqu'au terme de l'ovogénèse grâce aux protéines que l'anophèle femelle trouve dans le sang des vertébrés sur lesquels il se nourrit. Le premier repas de sang pris avant ou après l'accouplement est en général insuffisant pour assurer la maturation des ovocytes. Il faut alors un deuxième repas. On dit que la femelle passe par une phase pré-gravide. Les ovocytes se développent au fur et à mesure que le sang est digéré. Cela est visible à l'oeil nu par observation de l'abdomen (Fig 2). Mince et noir avant le repas, quand le moustique est dit "à jeun", il se dilate et devient rougeâtre après le repas, on parle alors de "moustique gorgé". Au fur et à mesure que la digestion progresse, il devient blanchâtre lorsque les ovocytes sont développés. Au cours de ce processus qui dure environ 48 heures, le moustique devient "semi-gravide" puis ensuite "gravide" (fig. 2). Les ovocytes à maturité descendent dans l'oviducte où ils sont fécondés et deviennent des oeufs qui seront pondus dès que la femelle aura trouvé un gîte convenable.



A = non gorgé ; B = gorgée ; C = gravide

Figure 2. Etat de l'abdomen des anophèles femelles
(D'après *A Practical Guide for Malaria Entomologist in the African Region*, WHO, 1961)

Le cycle de maturation des ovocytes qui débute avec le repas de sang et qui se termine avec la ponte est dénommé *cycle gonotrophique*. Une femelle effectue un nombre variable de cycles dans sa vie, mais sur le terrain il est assez rare de trouver des femelles ayant pondu plus de 8 fois. Si l'évolution à terme du premier cycle nécessite deux repas de sang, pour les autres cycles, en général un seul suffit, les ovocytes étant déjà au stade II de leur développement en début de cycle suivant. La durée du cycle est assez constante pour une espèce donnée. Pour *An. gambiae* s.l et *An. funestus*, elle est de 4 à 5 jours pour le premier cycle et de 2 à 3 jours pour les cycles suivants. En saison des pluies, lorsque les cycles gonotrophiques se succèdent sans interruption, la durée moyenne de vie de ces 2 espèces est de 3 à 4 semaines. Dès que les conditions deviennent de moins en moins favorables, la plupart des moustiques vont disparaître tandis que quelques individus vont survivre longtemps, assurant ainsi la survie de l'espèce.

2.2.4. Différences morphologiques entre le genre *Anopheles* et les autres genres

Les moustiques ont une constitution morphologique générale propre à tous les genres. Les genres les plus fréquemment rencontrés en Afrique en général et au Burkina Faso en particulier sont,

- le genre *Anopheles*
- le genre *Culex*
- le genre *Aedes*.

La différence morphologique la plus visible à l'oeil nu entre un mâle de moustique et une femelle est que, les mâles portent des antennes plumeuses alors que les femelles les ont glabres. Cependant, il existe des différences entre les mâles des anophèles et ceux des Culicidés. Elles se situent au niveau des palpes maxillaires, en forme de massue chez les premiers, effilés chez les seconds. Plusieurs critères permettent de différencier les membres appartenant aux 2 sous-familles (*Anophelinae* et *Culicinae*) dont sont issus les 3 genres cités ci dessus. Ces différences portent sur les ailes, les palpes maxillaires et la position au repos.

Chez les anophèles les ailes ont des taches caractéristiques, brun foncé sur le bord antérieur, les palpes sont aussi presque longs que la trompe et ces moustiques gardent une position oblique par rapport au support sur lequel ils sont posés.

Les femelles des autres genres ont le corps parallèle par rapport au support et leurs palpes maxillaires sont nettement plus courts (Fig 3). *Aedes* est facilement reconnaissable pour son corps très foncé, pratiquement noir, et *Culex* gris brun, ne présente pas de taches alaires.

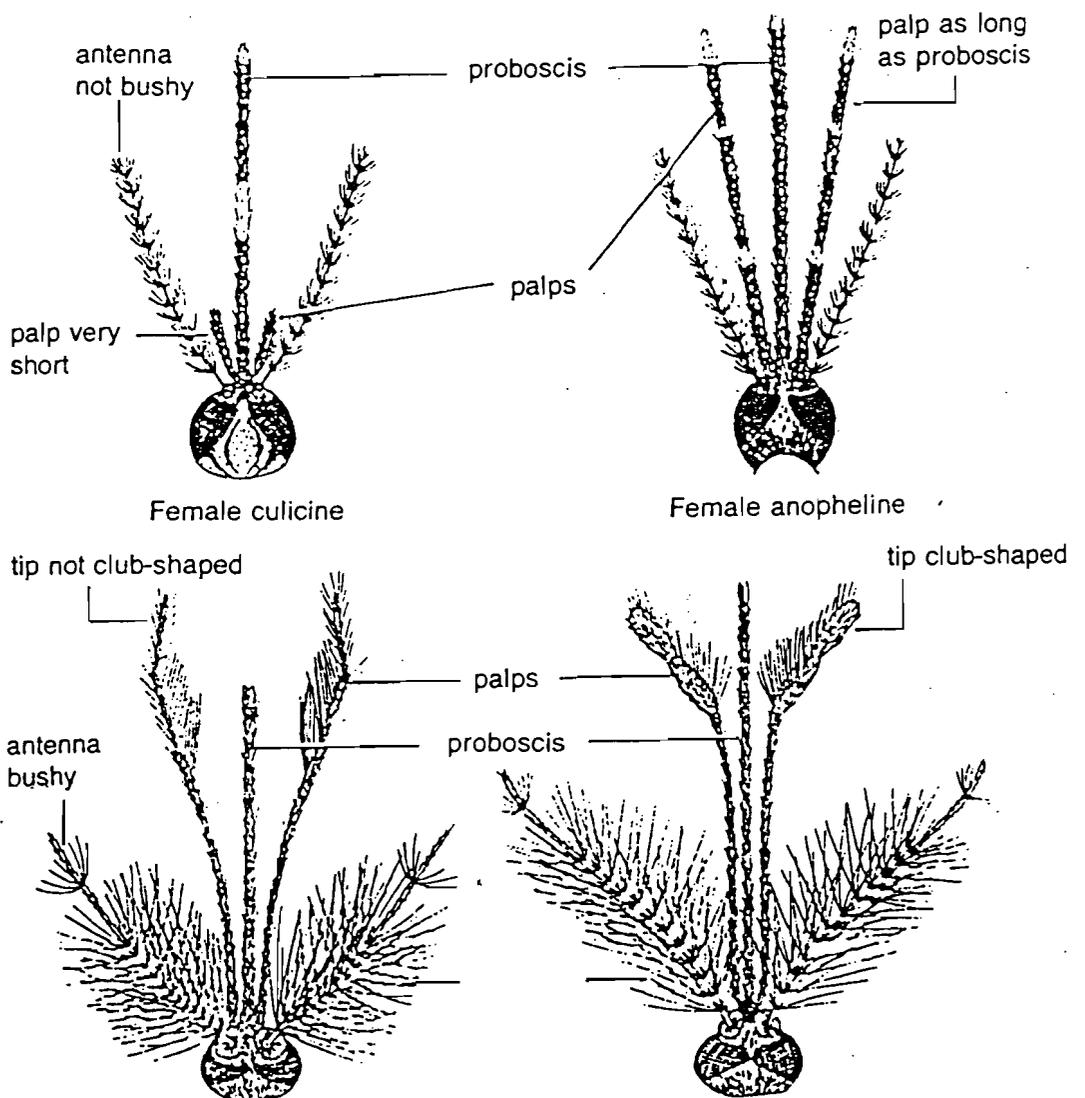


Figure 3. Têtes des mâles et des femelles d'anophèles et de culicinés
(D'après *Entomological Field Techniques for Malaria Control*, WHO, 1992)

An. gambiae s.l et *An. funestus* se distinguent l'un de l'autre par la taille, par l'aspect des pattes et par la couleur. Le premier, plus grand, est marron et présente des anneaux clairs sur les pattes alors que le deuxième, de couleur grise, n'en porte pas (Fig 4).

2.2.5.Cycle sporogonique du parasite chez l'anophèle et transmission

Seule la femelle du genre *Anopheles* est susceptible de transmettre le paludisme à l'homme (Fig 5). Elle s'infecte à la faveur d'un repas de sang pris sur un sujet infesté porteur de gamétocytes. Elle absorbe différents stades du parasite. Les éléments asexués, trophozoïtes et schizontes seront tous digérés. Seuls les gamétocytes poursuivront leur développement. Dans les 20 minutes qui suivent le repas de sang, ceux-ci évoluent rapidement en micro et macro-gamètes. La fusion des gamètes complémentaires donne un zygote mobile qui prend le nom d'ookinète (oeuf mobile en grec). L'ookinète à l'intérieur duquel a lieu la réduction chromosomique par méiose, traverse la paroi de l'estomac et forme sur sa face externe un oocyste dont l'évolution aboutira aux sporozoïtes. Un moustique capturé sur le terrain héberge fréquemment un seul oocyste, mais on peut en observer plusieurs. Chaque oocyste libère des milliers de sporozoïtes. Ces derniers par leur mouvement, fragilisent la membrane de l'oocyste qui cède et les libère dans l'hémolymphe. Ils gagneront par la suite les glandes salivaires dans lesquelles ils pourront s'incorporer. Ils seront injectés lors du prochain repas de sang, faisant ainsi démarrer le cycle sporogamogonique chez l'homme. Le cycle sporogonique du *Plasmodium* chez le vecteur dure environ 10 à 25 jours et ce en fonction de l'espèce plasmodiale et de la température.

2.3.COMPOSANTES DE LA LUTTE ANTIVECTORIELLE

Les maladies à vecteurs en général nécessitent la mise en commun de 2 composantes pour sinon être éradiquées du moins être réduites à un seuil acceptable en matière de santé publique: des actions préventives basées sur la chimioprophylaxie, la lutte contre les vecteurs ou la vaccination, des actions curatives basées sur la chimiothérapie. La lutte contre les moustiques, vecteurs de paludisme est une composante assez complexe en raison de la diversité des espèces affichant des comportements variables et aux faibles revenus des Etats les plus touchés.

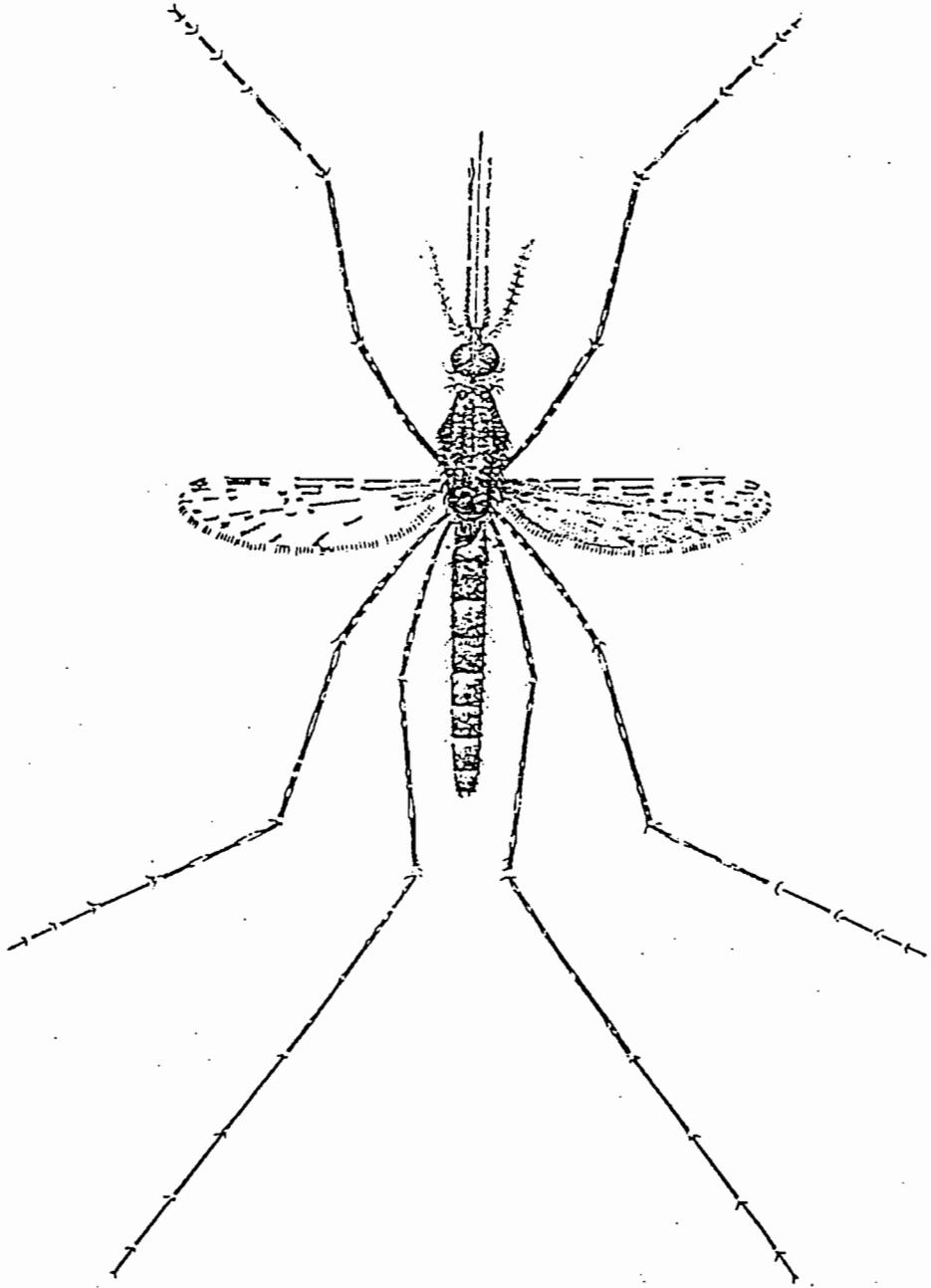


Figure 4a. *Anopheles gambiae* sl.
(D'après Gillet JD & Smith JG dans *Common African Moquitos*, 1972)

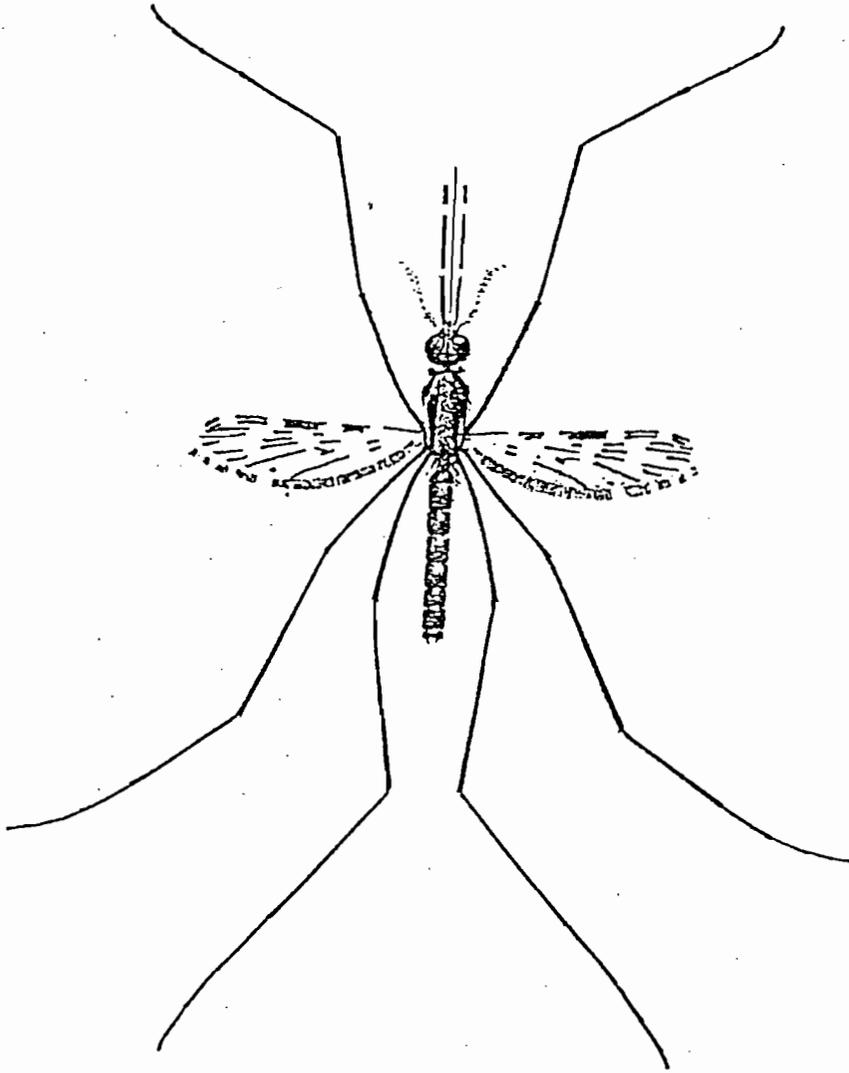
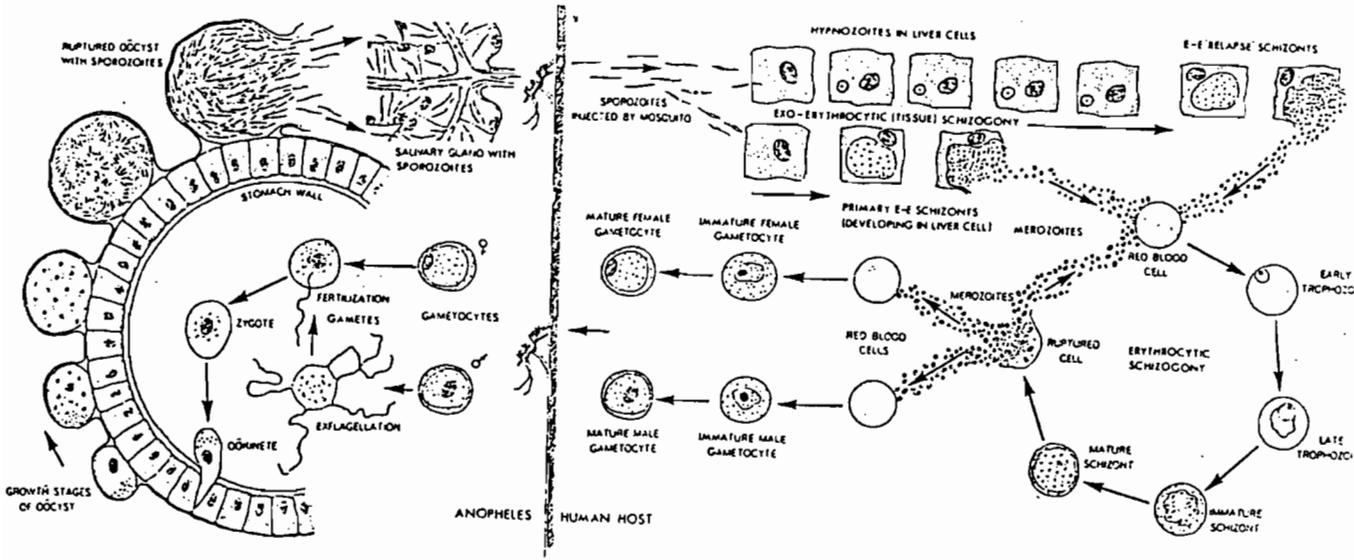


Figure 4b. *Anopheles funestus*.
(D'après Gillet JD & Smith JG dans *Common African Mosquitos*, 1972)



Chez le moustique

Chez l'homme

Figure 5. Cycle de développement des parasites du paludisme chez le moustique et chez l'homme (D'après Bruce Chwatt LJ dans *Essential Malarialogy*, 1951)

2.3.1.L'Aménagement de l'Environnement

Le problème des vecteurs et des nuisances dans les grands centres résulte de l'urbanisation anarchique et extensive, de la dégradation de l'environnement et de sa mauvaise gestion. Les méthodes d'aménagement de l'environnement sont les mieux à même d'apporter une solution pérenne. Cela recouvre toute une gamme de tâches et d'activités qui ont été valablement définies et classées par un comité d'experts de l'OMS (OMS.,1980a). Ces mesures exigent parfois des investissements importants alors que les résultats sont souvent longs à apparaître au point que les municipalités manquent assez souvent de volonté mais aussi de moyens pour s'y investir. Dans les pays en développement, les états soucieux de la relance de l'économie s'investissent dans les ouvrages de grande envergure qui créent souvent des conditions favorables au développement des vecteurs de maladies: systèmes d'irrigation, drainage agricole, retenues d'eaux à des fins diverses, maîtrises des eaux, construction de grandes routes et de voies ferrées. L'ingénieur ne cesse de créer des problèmes liés aux vecteurs du fait de la méconnaissance des répercussions de ses activités. Le biologiste et l'ingénieur devraient s'associer sur tous les aspects des projets avant leur mise à exécution.

Toute lutte antivectorielle par le biais de l'aménagement de l'environnement nécessiterait une participation active de la communauté. La biologie de reproduction des culicinés est très simple; allant d'un marécage jusqu'à une simple empreinte de pas, la femelle du moustique dépose ses oeufs d'où s'échapperont des adultes 8 à 10 jours plus tard. En saison hivernale, dans la plupart des pays africains, les flaques d'eau se rencontrent en permanence autour des concessions. Autrefois, la lutte contre les moustiques urbains était en partie basée sur l'élimination mécanique des gîtes larvaires potentiels. Ce procédé, très efficace lorsqu'il est rigoureusement appliqué, mais toujours assez impopulaire, a souvent été dépassé par la vitesse de l'urbanisation et a été progressivement abandonné alors que se généralisait l'emploi des insecticides à effet rémanent. La communauté pourrait s'adjoindre à l'action des municipalités en nettoyant assez régulièrement les alentours des concessions afin d'éliminer les sites de reproduction des vecteurs.

2.3.2. La lutte biologique contre les vecteurs

La lutte biologique est souvent considérée comme la solution idéale aux problèmes posés par la lutte contre les insectes. En agriculture, elle connaît des succès certains, mais limités. Les biopesticides commercialisés en 1986 (essentiellement *B. thuringiensis*) représentaient moins de 1% du marché des pesticides (Hardy, 1986), mais l'espoir réside dans les applications possibles du génie génétique, en particulier dans le transfert des gènes des toxines de *B. thuringiensis* dans les plantes cultivées.

La lutte antivectorielle en santé publique s'applique souvent à des insectes à développement rapide dont l'impact de la dynamique des populations sur la transmission de la maladie est souvent mal connu. La capacité vectorielle de la plupart des espèces de moustiques et de simulies par exemple étant très élevée, l'arrêt de la transmission de la maladie nécessite de maintenir les populations de vecteurs en dessous d'un seuil qui soit le plus bas possible.

La lutte biologique contre les vecteurs peut faire appel à différents agents (poissons larvivores, virus, champignons, bactéries...). Les plus efficaces et les plus prometteurs sur le terrain sont deux bactéries sporulantes appartenant au genre *Bacillus* (WHO, 1984): *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ou (B.t.i.) et *Bacillus sphaericus*. Ces bactéries forment des spores et des toxines entomopathogènes puissantes et stables. Elles résistent assez bien à un stockage prolongé même en milieu tropical. Les toxines sont de puissants poisons pour les larves, agissent au niveau de l'intestin. Elles ne deviennent efficaces que lorsqu'elles sont ingérées, et n'ont aucun effet par contact. L'activité résiduelle du B.t.i. est très courte (quelques jours) et son utilisation sur le terrain nécessite donc des applications répétées toutes les semaines. Ces bactéries n'ont aucun effet sur les oeufs, les nymphes et les adultes.

Elles sont presque totalement inoffensives pour la faune non cible et ne risquent donc pas d'entraîner une résurgence des populations vectrices par suite de la destruction de leurs ennemis naturels. Elles n'ont aucune toxicité pour l'homme et peuvent donc être appliquées dans les réservoirs domestiques d'eau potable et en présence de cultures vivrières; même jusqu'au moment de la récolte (OMS, 1982).

2.3.3. La lutte génétique

Bien que les essais de lutte génétique contre les vecteurs soient récents, des progrès considérables ont été réalisés sur l'étude de la génétique de plusieurs espèces. Les fondements de cette lutte génétique pour le contrôle des vecteurs ont été établis par LaChance et Knippling (1962), Craig (1963), Knippling *et al.*, (1968), Whitten et Pal (1974), Whitten et Foster (1975), Waterhouse *et al.*, (1976), Curtis (1985), etc. Le principe est basé sur la propagation de génération en génération de facteurs défavorables à la survie de l'espèce. Mais une étude génétique poussée de l'espèce est un préalable indispensable à l'élaboration d'un quelconque programme de contrôle. La dynamique de la population, l'écologie et les techniques d'élevage en masse de l'espèce doivent être bien connues. Il serait souhaitable que le contrôle d'une espèce donnée soit effective au bout d'un seul lâcher (Curtis 1968), bien qu'en réalité cela n'ait pu encore être effectué dans la pratique. Plusieurs mécanismes éventuels ont été proposés pour le contrôle génétique des insectes, mais le plus utilisé jusqu'à présent, est le lâcher des mâles stériles.

La technique des insectes stériles est basée sur l'induction de la stérilité sexuelle par irradiation ou par utilisation de produits chimiques stérilisants chez les mâles. L'irradiation ou l'utilisation des produits chimiques stérilisants peuvent inhiber et empêcher complètement la production des gamètes chez les insectes (Rai 1964, LaChance 1967).

L'application de cette technique pour le contrôle des moustiques a été revue par Rai (1969) et par Asman *et al.*, (1981). Dans les années 1960, elle a été utilisée contre *Culex fatigans* (Krishnamurthy *et al.*, 1962), *Aedes aegypti* (Morlan *et al.*, 1962) et *Anopheles quadrimaculatus* (Weidhaas *et al.*, 1962). Tous ces essais étaient basés sur le lâcher de mâles stérilisés par irradiation. La faisabilité de l'application directe de chimiostérilisants contre une population de *C. tarsalis* a été évaluée par Lewallen *et al.*, (1965). Plusieurs autres essais, en Inde (Patterson *et al.*, 1975), (Yasumo *et al.*, 1978) et en Californie (Asman *et al.*, 1980, Reisen *et al.*, 1981) ont été entrepris. Mais en terme de réduction de la population cible, aucun de ces essais n'a été un réel succès et ceci pour de multiples raisons telles que, mauvaise irradiation, perte d'aptitude des mâles à copuler après un trop long séjour au laboratoire, non-compétitivité dans les conditions naturelles et immigration des femelles fertiles provenant des zones proches des sites d'expérimentation. Cette technique a

été aussi utilisée pour la lutte contre les glossines comme ce fut le cas au Burkina Faso (Cuisance *et al.*, 1978), au Nigeria (Lindquist 1984), au Zimbabwe et en Tanzanie (Dame *et al.*, 1981).

2.3.4. La lutte chimique

Les insecticides sont aujourd'hui d'un usage fréquent dans plusieurs pays, aussi bien pour lutter contre les ravageurs des cultures que pour éliminer les insectes nuisibles à l'homme et aux animaux domestiques. Bien que leur utilisation remonte à une époque reculée, mais ils n'ont pris de l'ampleur qu'avec la découverte du DDT. Synthétisé en 1874 par Zeidler, le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) a vu ses propriétés insecticides mises en évidence par le chimiste Müller en 1939 et son implication réelle dans la lutte contre les insectes nuisibles fut effective à partir de 1942 (Dajoz, 1969). Du fait de ses propriétés insecticides et de son faible coût de production, il a été par la suite largement utilisé dans les programmes de lutte contre les vecteurs de maladies.

Les nombreux insecticides utilisés de nos jours tant dans le domaine de l'agriculture que de la santé publique se répartissent en deux grands groupes: les insecticides inorganiques et les insecticides organiques de synthèse ou végétaux. Les composés inorganiques prennent en compte les produits fluorés, les produits phosphorés et les produits soufrés. De nos jours leur usage est très limité en raison de leur manque de sélectivité et de leur impact limité sur la faune cible.

Les composés organiques de synthèse sont les plus utilisés de nos jours et se divisent en composés organochlorés (OC), organophosphorés (OP), en carbamates et les dérivés des plantes ou d'autres organismes.

i. Les composés organochlorés (OC)

Ce groupe de composés peut être subdivisé en 3 sous groupes

- Le DDT et ses analogues
- Le lindane
- Les Cyclodiènes

Les organochlorés tuent généralement par contact mais peuvent aussi agir comme des poisons par absorption et dans quelques cas comme des fumigants. La plupart de ces composés agissent sur le système nerveux. Le lindane et les cyclodiènes agissent sur le système nerveux central en inhibant les canaux chlorures, récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), tandis que le DDT agit à la fois sur le système nerveux périphérique et central en modifiant les caractéristiques pharmacologiques et électrophysiologiques des protéines des canaux sodium voltage-dépendant (CNaVdp).

Bien que les organochlorés aient été largement utilisés dans les années 50-60 dans les programmes de contrôle du paludisme, ils ont été progressivement déclassés à cause de leur accumulation dans les chaînes trophiques. Le DDT s'accumule dans les tissus adipeux en raison de sa solubilité dans les graisses. De ce fait on le retrouve dans le lait lorsque le bétail a été nourri avec de l'herbe traitée.

ii. Les organophosphorés (OP)

Les premiers insecticides phosphorés ont été mis au point en Allemagne pendant la seconde guerre mondiale. Le nombre d'insecticides phosphorés actuellement mis au point est très grand. Ils peuvent être classés en deux grands sous-groupes: les insecticides **exothérapeutiques** (le parathion, le malathion etc...), qui pénètrent directement dans l'organisme des insectes par des voies diverses et les insecticides **endothérapeutiques ou systémiques** qui ont la particularité de pénétrer dans les végétaux et d'y circuler avec la sève en subissant parfois des modifications et dans tous les cas en rendant ces végétaux toxiques pour les insectes qui les consomment. C'est la forme oxydée de ces pesticides qui se fixe sur l'acétylcholinestérase. Cette enzyme dégrade l'acétylcholine, qui agit comme neuroméiateur des synapses cholinergiques. La fixation des organophosphorés sur l'acétylcholinestérase entraîne l'accumulation d'acétylcholine dans la jonction synaptique. Lorsque sa concentration devient trop forte, les récepteurs de l'acétylcholine se bloquent en position ouverte, induisant la paralysie puis la mort de l'insecte.

Les organophosphorés ont une formule chimique générale commune, mais diffèrent par leurs propriétés physiques et pharmacocologiques. Ces insecticides sont en général moins stables que les organochlorés et peuvent se dégrader par plusieurs voies telles que par

hydrolyse en présence d'eau ou par altération chimique en présence d'oxygène ou de la chaleur etc... De ce fait ils ne s'accumulent pas dans les tissus adipeux, mais sont métabolisés et excrétés par les reins. Pour toutes ces raisons, les organophosphorés, quoique ayant un coût de production nettement plus élevé, ont pris de nos jours le pas sur les organochlorés.

iii. Les carbamates

Les carbamates, tout comme les organophosphorés, sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, mais leur coût de production étant plus élevé, ils sont considérés comme des insecticides "de circonstances spéciales" ou seulement utilisés dans les cas où l'utilisation des autres insecticides se heurte à un échec.

iv. Les pyréthrinoïdes naturels et synthétiques

a. Les pyréthrinoïdes naturels

Les composés insecticides dérivés des plantes sont considérés comme des insecticides botaniques. Les insecticides du genre utilisés de nos jours proviennent des familles de plantes telles que les *Solanaceae* (le tabac) d'où l'on extrait la nicotine, les *Compositaceae* (le *Chrysanthemum*) d'où l'on extrait les pyréthrines.

De toutes ces plantes, seules les plantes du genre *Chrysanthemum* ont été largement utilisées. Au moins 6 composés ont été tirés des fleurs du *Chrysanthemum cinerariaefolium*. C'est une plante commerciale cultivée dans de nombreux pays, tant en zones tropicales que tempérées. Il faut utiliser 35 tonnes de fleurs pour avoir 1 tonne d'extrait. L'extraction se fait souvent dans de l'acétone et l'extrait est concentré par distillation. Ces extraits de plantes exercent un effet "knock down" (kd) rapide sur les insectes. Ils sont très toxiques pour les insectes et pour les animaux à sang froid et peu ou pas toxiques pour les animaux à sang chaud. Ils n'ont aucune stabilité et se dégradent rapidement au contact de la lumière. Ainsi ils ont été longtemps utilisés comme ingrédients dans la constitution des bombes aérosols utilisées à domicile contre les nuisances domestiques.

b. Les pyréthrinoïdes synthétiques

L'identification des pyréthrines naturelles a permis la synthèse de composés ayant des effets insecticides similaires ou meilleurs que ceux observés chez les extraits des plantes. Le premier insecticide synthétisé fut l'alléthrine, puis la resméthrine, la bioresméthrine et la cisméthrine. Ces composés ont des potentialités insecticides mais sont tous instables comme les produits naturels d'origine. L'introduction des synergistes a réduit leur coût d'utilisation. La découverte de la perméthrine a été le point culminant dans la recherche sur la chimie des pyréthrinoïdes. Elle a un effet kd légèrement plus faible mais agit à des doses très faibles. Sa stabilité à la lumière lui a valu un grand intérêt dans les domaines de l'agriculture et de la santé publique.

***La perméthrine**

La perméthrine a été synthétisée pour la première fois en 1973 par Elliot et commercialisée en 1977. Elle est obtenue par estérification d'un dérivé analogue du dichloro-Vinyl de l'acide chrysanthémique. Sa formule moléculaire est $C_{21}H_{20}Cl_2O_3$ et elle comporte 4 stéréoisomères [1R, trans], [1R, cis], [1S, trans], [1S, cis] dans les proportions approximatives de 3:2:3:2. L'isomère [1R, cis] est le plus efficace suivi du [1R, trans].

La perméthrine est stable à la chaleur et à la lumière. Elle est plus stable dans le milieu acide que dans le milieu alcalin avec un optimum de stabilité à pH 4.

La métabolisation de la perméthrine a été étudiée en détail chez plusieurs espèces de mammifères. Administrée chez les mammifères, elle est rapidement métabolisée et presque entièrement éliminée de l'organisme en très peu de temps. L'isomère trans est plus rapidement éliminé que l'isomère cis. L'élimination se fait par les urines, les fecès et pour une moindre part par le CO₂ expiré. La perméthrine se dégrade dans le sol et a une demi-vie de 28 jours environ. Son utilisation pour le traitement des cultures est sans danger du fait de sa disparition relativement rapide de l'environnement.

La perméthrine a un large spectre d'action sur les insectes. Elle agit soit par contact direct soit par ingestion, mais elle a une faible activité fumigène. Elle est active contre tous les stades de développement, larves comme adultes. Tout comme le DDT, elle agit à la fois

sur le système nerveux périphérique et central en modifiant les caractéristiques pharmacologiques et électrophysiologiques des protéines des canaux sodium voltage-dépendant (CNaVdp). Les CNaVdp interviennent dans la transmission de l'influx nerveux le long des axones. Ces canaux une fois activés (i.e. en position ouverte), entraînent un flux d'ions Sodium du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire, générant un potentiel d'action. Cette dépolarisation de la membrane cellulaire ne dure que quelques millisecondes et le canal revient spontanément à l'état de repos (i. e. fermé). Elle provoque l'activation des CNaVdp situés à proximité et de proche en proche, engendre une vague de dépolarisation assurant la propagation de l'influx nerveux (Chapman, 1969). Les pyréthrinoïdes et le DDT agissent en modifiant la cinétique d'inactivation des CNaVdp.

La perméthrine est principalement utilisée pour le traitement du cotonier (61% de la consommation). Les plus grands consommateurs en 1980 étaient les USA (263 tonnes), le Brésil (38 tonnes), le Mexique (36 tonnes) et l'Amérique centrale (27 tonnes). D'autres cultures pour lesquelles la perméthrine est utilisée sont le maïs, le soja, le café, le tabac, le blé, les fruits etc. La perméthrine est aussi utilisée pour la protection des céréales. Ainsi elle a été utilisée à large échelle en Australie pour protéger le sorgho et le blé. Elle est aussi utilisée pour le contrôle des insectes à domicile et contre les vecteurs de maladies en santé publique, surtout contre les vecteurs du paludisme en imprégnation sur les moustiquaires et les rideaux. Elle est aussi remplacée par les dérivés α -cyanés (cyanopyréthrinoïdes) dont la cyperméthrine et son dérivé alpha.

2.4. Les mécanismes de résistance chez les vecteurs

Le terme résistance a été défini par l'OMS comme la faculté chez une souche d'un organisme donné à tolérer les doses d'un produit toxique qui tue la majorité des individus d'une population normale de la même espèce.

Tous les êtres vivants possèdent des mécanismes de défense qui les protègent contre les effets néfastes de certains corps étrangers. Si une substance toxique entre dans un organisme aussi rapidement qu'elle ne peut être éliminée, elle s'accumule au niveau de son site d'action jusqu'à atteindre une concentration létale. L'organisme pour s'en défendre

développe des mécanismes ou des comportements qui lui éviteront de consommer des doses létales du toxique.

Les mécanismes de résistance peuvent être classés en 4 catégories:

- pénétration réduite
- détoxification
- modification de la cible
- changement de comportement

2.4.1.La pénétration réduite

Nombre d'insecticides pénètrent dans l'organisme de l'insecte à travers la cuticule. Des changements au niveau de cette dernière peuvent réduire la pénétration de l'insecticide conférant ainsi une résistance à certains d'insecticides. Mais ce mécanisme à lui seul confère en général un très faible niveau de résistance (Oppenoorth, 1985). Cependant son action en complément d'autres mécanismes peut conduire à une augmentation significative de la résistance.

2.4.2.La détoxification

Certaines enzymes sont impliquées dans le mécanisme de détoxification des molécules d'insecticides et confèrent ainsi aux insectes qui en sont porteurs une résistance à ces insecticides. Cette résistance est le résultat d'une modification de la structure moléculaire de l'enzyme, ce qui accroît ses capacités de détoxification, et/ou d'une augmentation de la quantité d'enzymes produites. Elles dégradent les insecticides en molécules non ou moins toxiques.

i.Les estérases

Ces enzymes coupent les liaisons carboxylester et les liaisons phosphodiester. Elles sont impliquées dans la résistance aux organophosphorés et à un degré moindre dans la résistance aux pyréthrinoïdes. Plusieurs estérases de résistance ont été révélées par électrophorèse chez les moustiques, notamment *C. pipiens*. La classification de ces estérases en types A ou B repose sur leur capacité à hydrolyser de façon préférentielle l'un

ou l'autre substrat: l'acétate d' α -naphthyle ou l'acétate de β -naphthyle. Chez *C. quinquefasciatus*, on a mis en évidence une surproduction d'estérase B1 en parallèle à l'augmentation de la résistance au chlopyrifos. La base génétique de cette grande activité estérasiq ue est une amplification génique (copie multiple du gène codant pour l'enzyme) (Mouches *et al.*, 1986, Soderlund et Bloomquist, 1990, Devonshire et Field, 1991). Ce renforcement d'un mécanisme de défense naturel a un coût biochimique pour l'insecte. Ainsi chez *C. quinquefasciatus* les estérases surproduites peuvent représenter jusqu'à 30% des protéines totales de l'insecte.

ii. Les oxydases

Les oxydases sont impliquées dans la résistance à plusieurs groupes d'insecticides. Il s'agit là de phénomènes métaboliques encore relativement mal connus pour ce qui concerne leur implication dans la résistance aux insecticides. L'action de ces oxydases donne lieu à la formation de sous produits solubles dans l'eau pouvant être facilement excrétés. Le rôle de ces oxydases à fonction mixte peut être détecté en utilisant un synergiste, le piperonyl butoxide en association avec l'insecticide dans les essais biologiques

iii. Les glutathion S-transférases (GST)

Elles permettent la conjugaison des insecticides avec la forme réduite du glutathion formant ainsi des métabolites moins toxiques. Chez *Ae. aegypti*, les gènes de 2 familles (GST1 et GST2) ont été clonés (Grant and Matsumura, 1988). Chez *An. gambiae* 7 GST différentes ont été identifiés (Prapanthadara *et al.*, 1995).

2.4.3. Modification de la cible

Les mutations au niveau de la cible de l'insecticide s'accompagnent souvent de phénomènes de résistance croisée. Ces modifications ont été observées au niveau des récepteurs ou des enzymes du système nerveux. De telles résistances sont dues à une baisse d'affinité du site d'action vis à vis de l'insecticide et non à une surproduction des molécules cibles comme ce fut souvent le cas chez les herbicides (Caretto *et al.*, 1994).

i.L'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) met fin aux impulsions nerveuses en catalysant l'hydrolyse du neurotransmetteur, l'acétylcholine. Les organophosphorés et les carbamates sont des neurotoxines. Ils inactivent cette enzyme par phosphorylation de la sérine au niveau du site d'action. Lors d'une intoxication, la cessation de la transmission des impulsions nerveuses au niveau des synapses cholinergiques n'a plus lieu entraînant la mort de l'insecte. Plusieurs insectes et arthropodes ont développé une résistance à ces composés en modifiant la structure de leur acétylcholinestérase. L'AChE des individus résistants est moins sensible à l'action inhibitrice de ces insecticides que celle des individus sensibles (Hama, 1983; Oppenoorth, 1985; Soderlund and Bloomquist, 1990). Cela a été mis en évidence chez certaines espèces de moustiques telles que *C. pipiens*, *An. albimanus* (Hemingway and Georghiou, 1983), *An. nigerrimus* (Hemingway *et al.*, 1986) et *An. sacharovi* (Hemingway *et al.*, 1992a). Chez *Drosophila melanogaster*, 4 sites de mutation ont été relevés sur la molécule de l'AChE. Ils modifient l'affinité du site d'action par rapport aux organophosphorés et aux carbamates (Mutero *et al.*, 1994).

ii.Les récepteurs GABA (gamma-aminobutyric acid)

Les organochlorés du groupe des cyclodiènes ont leur site d'action au niveau des récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique sur les fibres du système nerveux. Des mutations ponctuelles sur les récepteurs GABA sont responsables de la résistance aux cyclodiènes. Tout comme dans le cas de l'AChE, ces mutations entraînent une modification structurale du site d'action et réduisent ainsi la fixation des insecticides concernés.

iii.La résistance de type kdr (knockdown resistance)

L'exposition d'une souche sensible d'insectes au DDT ou à un pyréthrianoïde entraîne une paralysie très rapide (effet knock down). Ces insecticides agissent au niveau des canaux sodium voltage-dépendant (CNaVdp) de la membrane nerveuse en perturbant le fonctionnement normal des canaux et la transmission de l'influx le long des fibres nerveuses. Cette résistance est due, chez les moustiques, à une seule mutation ponctuelle dans le 6ème segment du domaine II du gène codant pour le canal sodium. La mise en évidence d'une

résistance croisée au DDT et aux pyréthrinoïdes est en général une bonne indication de l'implication du gène kdr dans la résistance, du moins si aucun mécanisme de détoxification n'est mis en évidence. Le gène codant pour cette résistance est appelé gène kdr. Il est récessif, par conséquent seuls les individus homozygotes pour la mutation sont résistants.

2.4.4. Résistance comportementale

Des changements de comportement pouvant conduire à une réduction de contact avec un insecticide peut augmenter la probabilité de survie de l'insecte dans un environnement traité. De tels comportements peuvent réduire la tendance de l'insecte à pénétrer dans une zone déjà traitée ou augmenter sa tendance à fuir une surface quand celle-ci est traitée. Dans tous les cas l'insecte a la capacité de détecter l'insecticide et l'éviter. Ce phénomène de résistance comportemental est mal connu.

2.5. FACTEURS DE SELECTION DE LA RESISTANCE CHEZ LES VECTEURS

Il a été démontré dans la plupart des cas de résistance observée sur le terrain que les traitements agricoles destinés, en particulier au coton ont été à l'origine de la sélection de la résistance chez les vecteurs. Il nous a donc paru essentiel pour cette étude de faire le point sur l'utilisation des insecticides en agriculture mais également en milieu urbain.

2.5.1. La culture du coton au Burkina Faso

i. L'historique de la culture cotonnière

La culture du coton à l'époque précoloniale occupait déjà une place importante. Cependant le coton était rarement cultivé seul mais en association avec d'autres cultures vivrières. En 1923 la production était d'environ 300 tonnes. Elle passe à 6 238 tonnes en 1925/26 (D.I. Traoré, 1996). Le territoire est alors couvert à 40% par cette activité. Au cours de la décennie 1960-1970, la culture du coton connut une progression spectaculaire à mettre sur le compte d'un accroissement des superficies cultivées qui passent de 20 560 ha en 1960 à 84 076 ha en 1969/70 et des rendements passant de 135 Kg/ha à 431 Kg/ha. Les facteurs de cet accroissement sont:

- la regression de la culture associée et l'instauration d'une monoculture;
- l'adoption des pratiques culturales;
- l'utilisation des traitements phytosanitaires et des engrais;
- l'amélioration des variétés;
- l'accroissement du nombre de producteurs.

En 1990/91, la production atteint 189 500 tonnes grâce à la conjonction d'un doublement des surfaces emblavées (170 000 ha) et d'un triplement du rendement agricole (1 100 Kg/ha) (rapport technique sur la campagne agricole cotonnière, 1997). Forts de ce diagnostic, les partenaires de la filière (SOFITEX, CNCA, CRPA...) ont mis au point ensemble une thérapie de choc pour faire passer la production de 152 000 tonnes réalisées en 1995/96 à 275 000 voire 345 000 tonnes à l'horizon 2 000.

ii.L'aire cotonnière

Au cours de la campagne agricole 1988/89, la production cotonnière du Burkina Faso se chiffrait à 145 879 tonnes de coton graine. La culture du coton était alors pratiquée dans 21 des 30 anciennes provinces administratives du pays (cf. carte 2). L'essentiel de la production était cependant concentré sur l'Ouest, et plus particulièrement sur un secteur géographique à cheval sur 7 provinces, qui avait assuré à lui seul 94 % des tonnages de coton-graine commercialisés. Ce secteur géographique, prenant en compte la totalité des provinces du Mouhoun, du Houet et du KénéDougou, une partie des provinces du Sourou, de la Kossi de la Bougouriba et de la Comoé constituait alors l'aire cotonnière du Burkina. Cette aire s'étend sur 57 000 Km² (20% du territoire national) et comptait en 1990 une population agricole d'environ 1 400 000 individus. Lors de la campagne agricole 1996/97, la production cotonnière a atteint 206 660 tonnes dont l'essentiel (80%) provenait de 7 provinces situées dans la partie ouest du territoire nouvellement divisé en 1996 en 45 provinces (Anonyme, 1997).

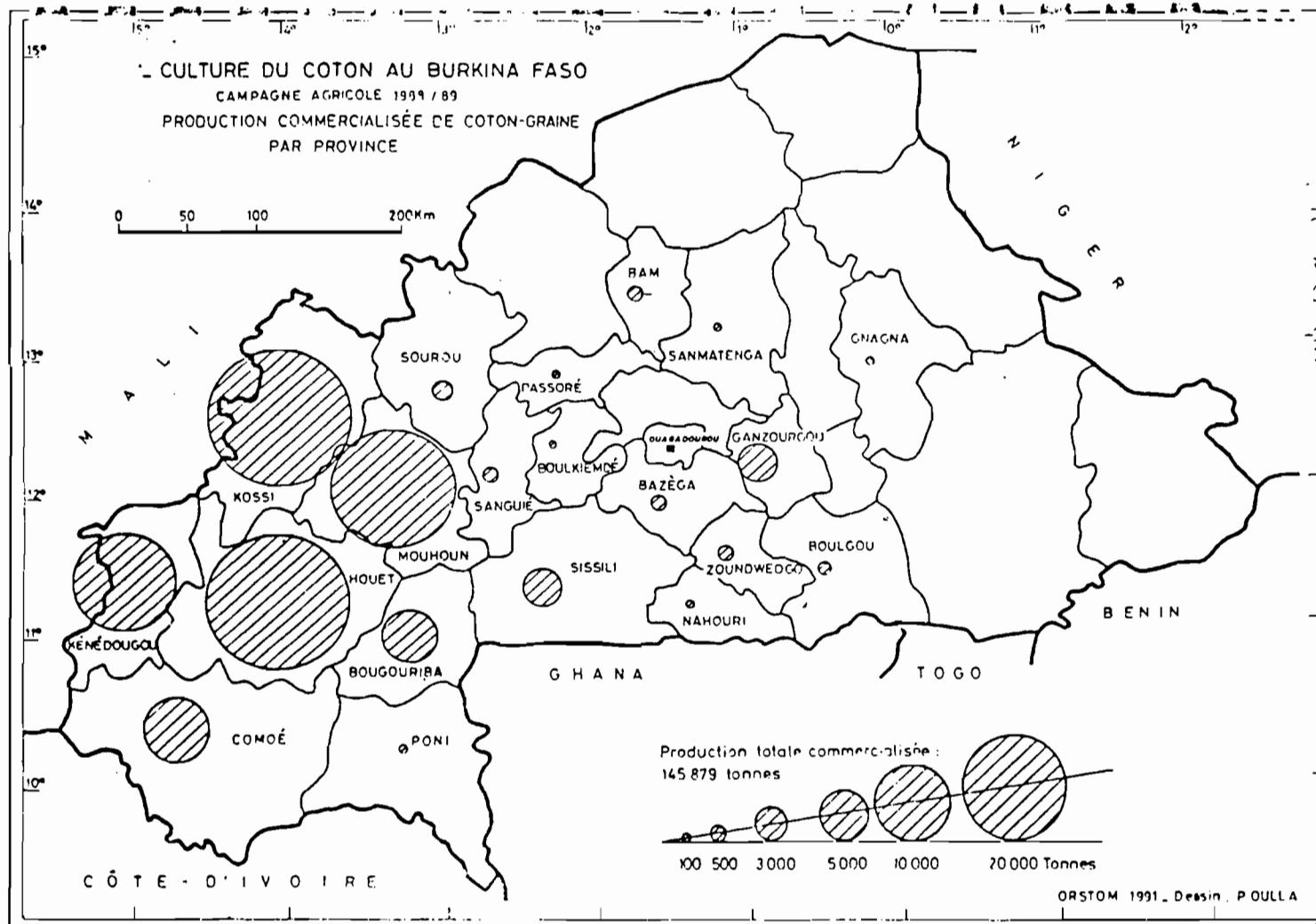
iii.Le traitement phytosanitaire dans la culture du coton

Le contexte de la lutte contre les insectes vecteurs de maladies diffère fondamentalement du contexte de lutte contre les ravageurs de culture. En agriculture et en

sylviculture, l'objectif est de protéger une production végétale implantée sur un espace bien délimité. Et l'efficacité de la lutte contre les insectes s'évalue généralement en fonction d'un seuil économique de dégâts des insectes ravageurs, prévisible, en dessous duquel une intervention phytosanitaire n'est pas justifiée financièrement. Les dégâts occasionnés sur le cotonnier sont extrêmement importants. En l'absence de protection insecticide, les pertes de rendement au Burkina Faso peuvent atteindre localement 90% du potentiel de production de certaines années et approchent 50% en moyenne sur les 7 dernières campagnes (Anonyme, 1997). Cette pression parasitaire peut expliquer que le coton soit la culture qui à travers le monde, consomme la plus grosse quantité d'insecticides. Lors de la campagne agricole 1996/97, suivant les besoins exprimés des paysans, 820 000 litres d'insecticides leur ont été livrés pour une superficie de 168 000 ha (tableau 2).

Tableau 2: Quantité d'insecticide utilisée lors de la campagne agricole de 1996/97

Provinces	superficies (ha)	qnté insecticide (litres)	nombre moyen de traitements
Bougouriba	10 290	53 298	5.17
Comoé	13 400	35 800	2.67
Houet	44 060	237 924	5.6
KénéDougou	32 235	140 054	4.34
Mouhoun	38 678	161 568	4.17
Kossi	29 415	192 100	6.53
Total	168 070	820 914	4.88



Carte 2. Répartition de la culture du coton au Burkina Faso
 (Schwartz A. doc. tech. ORSTOM 1991)

Une certaine gamme d'insecticides a été choisie pour combattre les ravageurs du coton. En général la lutte fait appel à un insecticide binaire voire ternaire, c'est à dire une association de deux ou trois matières actives (Pyréthrinoïdes et Organophosphorés). Le but de cette association est non seulement d'accroître l'efficacité des traitements, mais aussi de retarder l'apparition de populations résistantes à ces insecticides qui malheureusement, surtout les pyréthrinoïdes, n'ont déjà qu'une efficacité limitée sur les chenilles carpophages. La liste des insecticides utilisés et leur efficacité sur les ravageurs sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3: Liste des insecticides utilisés pour la protection du cotonnier

Insecticides / insectes	Pyréthrinoïdes	OP acaricides	OP aphicides	Pyr + OP acar.
chenilles carpophages	++	+	0	+++
chenilles phyllophages	+	++	0 à +	++
piqueurs suceurs	0	0 à +	++	0 à +
MATIERES ACTIVES				
	cyperméthrine	triazophos	diméthoate	
	deltaméthrine	profénophos	ométhoate	
	alphacyperméthrine	isoxathion	chlorpyrifos	
	fenvalérate	chlorpyriphos-éthyl	-méthyl	
	esfenvalérate			
	cyfluthrine			

+++ : très bonne efficacité, ++ : bonne efficacité, + : peu efficace, 0 : inefficace

La technique de traitement vulgarisée sur l'essentiel du territoire burkinabè consiste en des traitements systématiques sur calendrier. Il est demandé aux agriculteurs de traiter tous les 14 jours dès l'apparition de la première fleur (40 à 45 jours après le semis) et jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de capsules vertes à protéger. Ce qui en général nécessite 4 à 5 traitements par campagne. Le traitement se fait par pulvérisation. La technique actuellement vulgarisée, est l'UBV (Ultra Bas Volume) qui consiste à pulvériser 3 litres d'insecticides à l'hectare. Il est recommandé de reprendre le traitement lorsqu'il pleut moins de 6 heures après l'application, car le cotonnier est délavé de son insecticide qui est emporté par les eaux de ruissellement.

2.5.2. Les périmètres irrigués

Les rizières constituent un type d'aménagement hydro-agricole qui peut être appelé à se multiplier. Elles occasionnent habituellement une pullulation de moustiques, en particulier des anophèles vecteurs potentiels de paludisme. Ces périmètres aménagés permettent aux agriculteurs d'avoir 2 récoltes de riz par an. Comme pour tout système cultural à visées commerciales, les parasites du riz sont multiples et nécessitent un traitement phytosanitaire pour obtenir un bon rendement. Le spectre de la résistance croisée rendant caduques certains de ces insecticides, les agriculteurs pour faire face à ce problème, ont recours à une association d'insecticides pour les traitements. En général il s'agit d'organophosphorés et de pyréthriinoïdes. Les pyréthriinoïdes sont de plus en plus sollicités dans le traitement des cultures.

Le gouvernement burkinabè dans sa politique de relance de l'économie a initié des projets visant à installer les jeunes agriculteurs dans leurs terroirs en créant des périmètres irrigués. Des grands aménagements hydro-agricoles ont été ainsi réalisés dans les régions du sud-ouest et du nord-ouest du pays. Les aménagements de la Vallée du Kou (1 200 ha), des plaines de Banzon (475 ha), de Karfiguéla (375 ha), de Douna (410 ha), de Niéna-dionkélé (400 ha) et du Sourou permettent de réaliser une double culture de riz. Dans la région de Bérégadougou-Banfora, 3 900 ha de plantations de canne à sucre sont irriguées par aspersion grâce un système de canalisation permettant l'exploitation des eaux de la Comoé et du Yanon. Enfin la mise en valeur des périmètres de l'ONAT (Office National de

l'Aménagement des Terroirs) a permis d'installer 408 467 personnes réparties entre 67 villages regroupés en 12 unités de développement pratiquant aussi bien des cultures sous pluie (coton, sorgho, mil, maïs...) que des cultures irriguées (riz, pomme de terre, haricots verts...).

2.5.3.Lutte contre les nuisibles en milieu urbain

Les méthodes chimiques jouent un rôle encore important dans la lutte contre les nuisibles en milieu urbain. Une enquête de l'OMS sur les services municipaux de lutte antivectorielle a été réalisée en 1982-83 et a montré que dans 25 grandes villes de pays en développement, la demande d'insecticides pour la santé publique concernait essentiellement des produits utilisables comme larvicides ou en pulvérisation spatiale (Smith, 1984). Les produits les plus demandés étaient les organophosphorés. Mais une telle méthode de lutte toute seule dans un contexte où l'environnement immédiat prête à la formation et à la prolifération des gîtes larvaires nécessite un investissement important pour n'obtenir que des résultats partiels et transitoires. De nos jours la lutte contre les nuisibles en milieu urbain relève essentiellement du ressort des communautés. On se sert abondamment de serpentins anti-moustiques, même dans les communautés urbaines défavorisées. L'ingrédient actif est souvent un pyréthrianoïde. La fumée qui se dégage du serpentin exerce un effet de choc (immobilisation) imputable au pyréthrianoïde, en même temps qu'elle exerce un effet répulsif et empêche les insectes de piquer. Dans de nombreux pays, les bombes aérosols qui contiennent un ou des pyréthrianoïdes en association avec un synergiste sont employées maintenant dans les agglomérations urbaines pour détruire les pestes domestiques. Une enquête récemment menée par le Centre Muraz dans 3 centres urbains du Burkina Faso a recensé une vingtaine de marques de bombes aérosols et une quinzaine de serpentins contenant pour la plupart un pyréthrianoïde dans le mélange des principes actifs. Ces insecticides étaient vendus dans 97% des boutiques recensées. Cette enquête a montré des dépenses mensuelles absolues en bombes aérosols allant de 2 millions à 6 millions de francs CFA suivant les localités (données en cours d'exploitation).

2.6. Les Matériaux Imprégnés d'Insecticide dans la lutte contre le paludisme

Les rideaux et moustiquaires imprégnés de perméthrine constituent aujourd'hui des outils de choix dans la lutte contre les vecteurs de paludisme en milieu rural en Afrique au sud du Sahara. En effet ils ont donné de bons résultats en terme de réduction de la morbidité et de la mortalité palustre dans plusieurs essais de terrain à grande échelle (Alonso *et al.*, 1991/1993, U. D'Alessandro *et al.*, 1995, Binka *et al.*, 1996). Ils diminuent le contact homme-vecteur en repoussant ou en tuant les moustiques qui tentent d'atteindre leur appât (Ranque *et al.*, 1984 au Mali; Graves *et al.*, 1987 en Papouasie Nouvelle Guinée, Diabaté 1995). Cela relève du fait que les moustiques qui transmettent le paludisme piquent la nuit et ont un comportement endophile. Une revue de synthèse sur ce sujet a été publiée par Sexton en 1994.

Les premières études de terrain en Afrique, menées au Burkina Faso (Darriet *et al.*, 1984), au Mali (Ranque *et al.*, 1984), en Tanzanie (Lines *et al.*, 1985), et en Gambie (Snow *et al.*, 1987) ont révélé une réduction importante du nombre de piqures reçues par les personnes dormant sous moustiquaires imprégnées par rapport au groupe témoin sous moustiquaires non imprégnées. Quelques études ont également porté sur les rideaux imprégnés. Dans les nombreux contextes où les moustiquaires ne sont pas utilisées par la population et où leur introduction est difficile à cause de la superficie des maisons, les rideaux peuvent éventuellement remplacer les moustiquaires (Majori *et al.*, 1987).

Maintenant que l'efficacité des moustiquaires imprégnées en Afrique a été bien établie, l'OMS cherche désormais à en améliorer le rapport coût/efficacité et à pérenniser les actions de lutte. Les recherches comprennent d'une part le choix et l'évaluation des stratégies de développement des produits visant à améliorer les techniques de traitement et de retraitement des moustiquaires et de l'autre, la recherche d'autres méthodes de mise en oeuvre et de promotion qui permettront de maximiser l'impact et la durabilité des moustiquaires dans la lutte antipaludique. A cet effet, une étude portant sur la viabilité commerciale de ces matériaux imprégnés d'insecticide est en cours au Centre Muraz depuis déjà 3 ans avec pour objectif d'impliquer à terme, le secteur privé dans la vulgarisation des ces matériaux. L'évaluation de leur impact à long terme sur la mortalité par âge est en cours dans les sites d'étude du Burkina Faso (CNLP) et du Kenya.

3. REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR LA RÉSISTANCE DES VECTEURS

Les premiers cas de résistance ont été observés dès 1946 avec le DDT sur la mouche domestique, *Musca domestica* en Suède et au Danemark (1946), de moustiques, *Culex pipiens* en Italie et d'*Aedes sollicitans* en Floride, de punaises de lits, *Cimex leuctularius* en Hawaï (1947) et des poux de corps, *Pediculus humanus corporis* en Corée et au Japon (1951) (Brown, A 1971, Metcalf, R. L., 1989). Avec la mise au point de nouvelles molécules d'insecticides et l'intérêt réel qui leur a été accordé dans les programmes de lutte contre les insectes, le nombre de cas de résistance scientifiquement documenté a augmenté de façon exponentielle, passant de 224 espèces en 1970 à 364 en 1975 et 447 en 1984 (Georghiou G. P., 1981). La plupart des premiers cas de résistance ont été décelés chez les vecteurs du fait de l'utilisation massive du DDT, du lindane et de la dieldrine en agriculture et en santé publique. En 1970, la résistance a été observée chez 118 ravageurs de cultures et chez 166 vecteurs. En 1980, ces chiffres sont passés respectivement à 260 et 168 (Georghiou G. P., 1981, Metcalf, R. L., 1984).

En 1980, le comité d'experts de l'OMS sur la biologie et le contrôle des vecteurs répertoriait 51 espèces d'*Anophelinae*, 42 espèces de *Culicinae* et 41 autres Arthropodes d'importance médicale et vétérinaire concernés à des degrés divers par la résistance à un ou plusieurs insecticides chimiques (OMS, 1980b). Depuis certaines espèces importantes d'*Anophelinae* ont développé une résistance multiple aux organochlorés (DDT, dieldrine, lindane), aux organophosphorés et aux carbamates (Miles, 1985). *Simulium damnosum* et *S. soubrense*, deux espèces de simules vectrices d'onchocercose en Afrique de l'Ouest ont développé une résistance au téméphos (Guillet *et al.*, 1980) et au chlorphoxim (Kurtak *et al.*, 1982). Simultanément a été mise en évidence une résistance croisée à la plupart des organochlorés utilisables en santé publique.

Quant aux pyréthrinoïdes, quelques cas de résistance sur le terrain ont été signalés: Au Guatemala dans 6 localités où *An. albimanus* était résistant à la deltaméthrine (1980) et au Mexique en 1982 (Malcom C. A., 1988). Le deuxième cas a été signalé en Syrie en 1985, où *An. sacharovi* était résistante à la perméthrine. Herath en visite en Turquie en 1977 a obtenu des survivants d'*An. sacharovi* dans 3 localités à 0.2% de perméthrine

(Malcom C. A., 1988). Tout récemment en 1997, Chandre *et al.*, (1999) signalaient des cas de résistance de *An. gambiae* s.l à la perméthrine à Cotonou (Benin), à la Vallée du Kou (Burkina Faso), et dans plusieurs localités de la Côte d'Ivoire incluant Bouaké où cette résistance avait été signalée en 1993 (Elissa *et al.*, 1993). Cependant les mêmes auteurs signalaient une sensibilité normale à Yaoundé (Cameroun), Dakar (Sénégal) et Sébina (Botswana). La résistance à la deltaméthrine a été observée à Cotonou et en Côte d'Ivoire (Chandre *et al.*, 1999).

4.OBJECTIFS

L'étude s'est déroulée d'Octobre 1996 à Juillet 1998. Suite à une adoption des MII dans les programmes de lutte antivectorielle contre le paludisme au Burkina Faso, il était important avant que ces outils ne soient vulgarisés, d'évaluer au plan entomologique, les difficultés qui pourraient faire entrave à leur bonne marche. Il s'agissait de:

- étudier la répartition géographique de la résistance au Burkina Faso,
- déterminer le niveau de résistance rencontrée
- contribuer à la compréhension des facteurs et des mécanismes qui favorisent l'apparition de la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthrinoïdes.

5.MATERIELS ET METHODES/RESULTATS

5.1.Zone d'étude

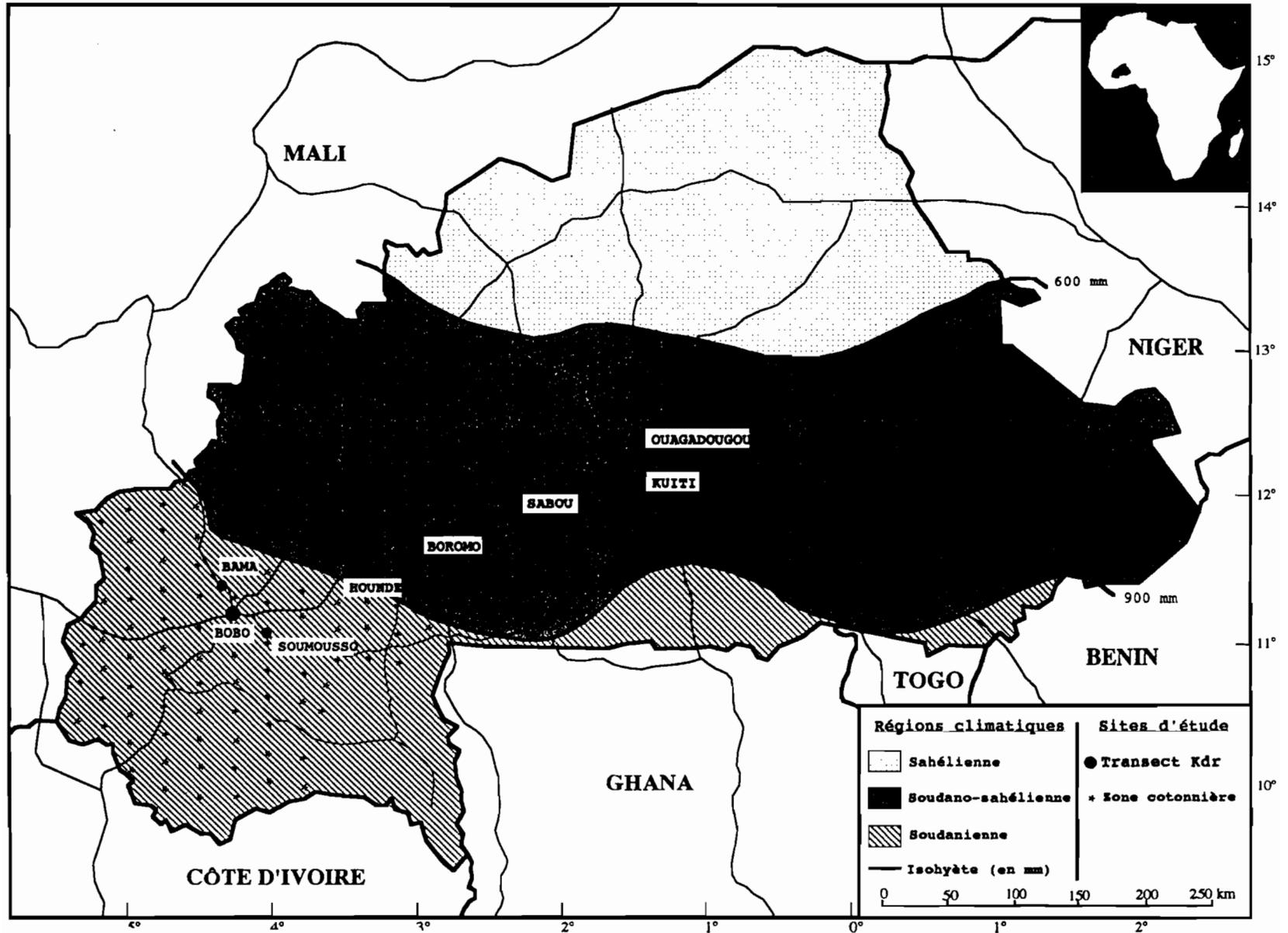
Les sites d'étude ont été choisis en tenant essentiellement compte des activités agricoles et de l'utilisation des insecticides. Ainsi 4 zones ont été définies suivant un transect Bobo-Dioulasso/Ouagadougou (carte n° 3):

- zone cotonnière
- zone rizicole
- zone urbaine
- zone témoin

On observe de fortes variations éco-climatiques le long de ce transect et les gîtes larvaires sont diversifiés allant de simples empreintes de pas à de vastes étendues de retenue d'eau créées pour les besoins de la culture.

i.Zone cotonnière

La zone cotonnière de notre étude regroupe les localités de Soumouso, village situé à une quarantaine de kilomètres à l'est de Bobo-Dioulasso, de Houndé, une localité semi-urbaine située à 100 km de Bobo-Dioulasso sur l'axe Bobo-Dioulasso Ouagadougou et de Boromo, une autre localité semi-urbaine à mi-chemin entre les 2 grandes villes. Ces 3 localités possèdent des cours d'eau importants qui forment des gîtes potentiels pendant la saison des pluies. Houndé principalement est entourée d'une mare qui recèle les eaux de ruissèlement des villages environnants en temps de fortes pluies. A Boromo, outre les petits points d'eau qu'on trouve çà et là, il existe du côté Est de la sortie de cette localité une mare et quelques puits parsemés. Les villageois se servent de ces puits pour pratiquer des cultures maraîchères. Ces 3 localités font partie de la zone cotonnière. Soumouso est située dans la province du Houet, (18% de la production cotonnière de la campagne 1996/97) Houndé dans la province de Tuy (10%) et Boromo dans celle de Balé (7%) (Anonyme, 1997).



Carte 3. Emplacement des sites d'étude

ii. Zone rizicole

La zone rizicole de la Vallée du Kou a été retenue pour notre étude. Elle est située à une trentaine de kilomètres au nord de Bobo-Dioulasso dans le sud-ouest du Burkina Faso. Elle est aménagée en rizière depuis 1970 et couvre une superficie de 1 200 ha irriguée avec l'eau détournée de la rivière Kou. Dans l'année, les paysans pratiquent 2 campagnes: l'une en saison de pluies (de Juillet en Janvier) et l'autre en saison sèche (Janvier à Juin). Environ 12000 personnes vivent dans 7 villages situés au milieu ou en périphérie du périmètre. La plupart de nos prélèvements de larves ont été effectués dans le village implanté au centre de la rizière et anciennement dénommé VK4 (Vallée du Kou numéro 4).

La rizière est avant tout un plan d'eau peu profond en constante évolution. Après la mise en eau des parcelles et pendant les 2 ou 3 semaines qui suivent le repiquage, elle offre des possibilités considérables de développement pour les anophèles. En Afrique de l'Ouest, c'est *An. gambiae* forme chromosomique Mopti qui en profite; c'est le cas de la rizière de la Vallée du Kou. Dans les zones où la forme chromosomique Mopti est absente, c'est *An. arabiensis* qui est favorisé; c'est le cas des rizières de la portion basse du fleuve Sénégal (Petarca *et al.*, 1987) et en Afrique de l'Est (Service, 1977). La dynamique des différentes espèces de moustiques s'échelonne dans le temps et dépend du cycle du riz (Snow, 1983, Robert *et al.*, 1988). *An. gambiae* utilise la rizière dès sa mise en eau et pendant le repiquage des jeunes pousses de riz jusqu'à ce que leur croissance fasse obstacle aux rayons du soleil. A ce moment *An. pharoensis* devient l'espèce numériquement la plus nombreuse et profite de la rizière pendant la croissance et la formation de l'épi du riz. Enfin *An. coustani* utilise la rizière dans la phase terminale du cycle du riz et pendant la récolte. *An. funestus* peut être rencontré dans la rizière, mais il reste numériquement très inférieur à *An. gambiae* s.l. (Hamon *et al.*, 1956).

Les habitants de la Vallée Kou se protègent des piqûres de moustiques en dormant sous moustiquaire, mais aussi en utilisant pour la plupart des tortillons dont l'ingrédient actif est un pyrèthrine et des bombes aérosols à un degré moindre.

iii. Zone urbaine

Les villes de Ouagadougou et de Bobo-Dioulasso ont été choisies pour cette étude en raison de la quantité de bombes aérosols et de tortillons utilisés dans la lutte contre les nuisances de piqûres causées par les moustiques. L'étude du marché qui a été menée par le Centre Muraz dans les villes de Bobo-Dioulasso et de Ouagadougou a donné respectivement des valeurs absolues de 4 675 400 FCFA et 5 922 190 FCFA comme dépenses mensuelles uniquement en bombes aérosols dans ces villes. (données en cours d'exploitation).

Ouagadougou compte environ plus d'un million d'habitants et est située au centre du pays sur le plateau central Mossi. C'est une ville caractéristique de la savane sahélienne avec une pluviométrie annuelle de 800 mm.

Bobo-Dioulasso est la capitale économique. Elle compte environ 300 000 habitants et est située dans la partie sud-ouest du pays. C'est la partie la plus humide du pays avec une pluviométrie annuelle de 1 300 mm (Laclavère, 1993).

Ce sont des agglomérations en constant accroissement issues de l'extension d'un village qui a constitué le noyau de base. A l'instar de la plupart des centres urbains, elles offrent une multitude de gîtes larvaires en rapport avec la nature usée des eaux, pour le développement de *C. quinquefasciatus*, principale cause de nuisance en ville. Les canaux de canalisation pour évacuer les eaux de pluies existent, mais ils sont rarement curvés de sorte qu'ils sont assez souvent obstrués par la végétation et/ou par des déchets de toute sorte jetés par la population environnante. D'autres types de gîtes favorables au développement des anophèles existent dans les quartiers périphériques. Ces quartiers pour la plupart en chantier, sont parsemés de grandes carrières d'emprunt de terre favorables à un développement propice des larves d'anophèles. En général, la transmission diminue de la périphérie de la ville vers le centre à mesure que les conditions deviennent plus défavorables aux vecteurs.

Le vecteur urbain pratiquement exclusif est *An. gambiae* sl. Il est le seul à y s'adapter et à s'y maintenir (Hamon *et al.*, 1956, Chinery, 1984). Cette espèce a une distribution dans les centres urbains qui dépend des caractéristiques locales du milieu. Ainsi *An. arabiensis* est rencontré à Pikine, banlieue de Dakar (Vercruyse & Jeancloes, 1981), la

forme Mopti à Ouagadougou (Petrarca *et al.*, 1986) et la forme Savane à Bobo-Dioulasso (Robert, 1989).

iv. Zone témoin

Deux sites d'étude ont été retenus comme zone contrôle. Il s'agit de Sabou, une localité située à 90 km au nord ouest de Ouagadougou et de Kuiti sur la route de Pô, située à une trentaine de kilomètres de Ouagadougou côté sud. Ces 2 localités font partie de la zone soudano-sahélienne et toutes deux peuplées par les Mossi, l'ethnie majoritaire du pays. Tout au tour du village de Sabou il existe une mare sacrée qui recèle de l'eau toute l'année. A l'ouest et au sud ouest, il existe 3 marigots temporaires qui se remplissent dès les premières grandes pluies au mois de Juin. Kuiti, quoique faisant partie de la même zone soudano-sahélienne, est relativement plus sèche avec seulement quelques petits points d'eau çà et là. Dans l'ensemble des 2 villages, la culture est essentiellement vivrière (mil, maïs, haricot...) et l'utilisation d'insecticides à des fins agricoles est réduite.

5.2. Récolte des moustiques dans la nature

5.2.1. Recherche des larves d'anophèles

Les espèces concernées par notre étude sont *An. gambiae* s.l et *An. funestus*. Dans le souci d'harmoniser nos résultats, les tests ont été réalisés sur des adultes de 2 à 5 jours de *An. gambiae* s.l issus de l'émergence des larves ramassées sur le terrain. Quant à *An. funestus*, les tests ont été réalisés sur des adultes issus de la capture nocturne effectuée dans les maisons d'habitation pour la simple raison qu'il ne nous était pas possible de ramasser les larves de cette espèce en quantité suffisante pour réaliser nos tests. La recherche des larves s'est faite en général tôt le matin dans des plans d'eau calmes des différents sites d'étude. L'étude n'ayant pas pour but de déterminer la densité larvaire des différents sites d'étude, la récolte des larves ne s'est pas faite par la méthode de dipping. Quand nous découvrons un gîte larvaire, nous ramassons le maximum de larves possibles, quel que soit leur stade de développement.

De façon classique les tests sont réalisés sur des femelles issues de la capture matinale. Ces femelles sont pour la plupart gorgées de sang ou sont à un état gravide ou semi-gravide. Il a été démontré que les résultats obtenus dans ces conditions varient sensiblement en fonction de l'âge et de l'état physiologique des femelles (Guillet communication personnelle).

5.2.2.Elévation des moustiques récoltés en insectarium

La plupart des adultes testés, proviennent des larves qui ont été mises en élevage à l'insectarium. Une fois que les larves viennent du terrain, nous les trions et les regroupons par stade de développement dans des bacs en évitant d'en mettre un trop grand nombre dans un même bac. Afin de leur assurer un développement normal et continu, nous les gardons dans l'eau de terrain dans laquelle elles ont été prélevées si celle-ci n'est pas trop boueuse. Les larves sont maintenues dans une salle munie d'un chauffage électrique afin de réchauffer la salle. Ce système de chauffage est mis en marche toute la nuit et est arrêté le lendemain matin à 8 h. Quand les larves se trouvent au stade 1 de développement, on les nourrit avec la levure de boulanger diluée dans l'eau. Puis elles sont régulièrement nourries aux croquettes pour chien ou pour chat. Ces croquettes sont finement broyées et séchées sous haute température. L'eau des bacs est changée quand elle apparaît polluée et malodorante. Afin d'éviter que des femelles d'une autre souche ne viennent pondre dans ces bacs, ils sont couverts avec un tissu fin et transparent cousu sur un cadre métallique. Dix jours sont en général nécessaires pour achever le développement des larves du stade 1 au stade nymphal.

Les nymphes sont triées chaque matin et ramenées dans la salle des adultes. Cette salle est munie d'une climatisation qui maintient la température à 28°C. Par moments nous versons de l'eau à même le sol cimenté pour relever le niveau de l'humidité de la salle. Les adultes sont maintenus dans des cages en toile de tissu moustiquaire. Ils sont nourris à l'eau glucosée dans laquelle on trempe des boulettes de coton. Ces boulettes sont changées 2 fois dans la journée. Les femelles sont gorgées sur lapin si on veut obtenir des pontes.

5.3. ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse de nos données a été effectuée sur les logiciels logprobit et EpiInfo. L'analyse de l'effet kd a été réalisée sur logprobit établie sur la base d'une droite de régression pondérée d'équation

$$y = b + ax$$

où y exprime le pourcentage de "kd" en fonction du log-temps (x). On a souvent utilisé les tests non paramétriques pour l'évaluation des hypothèses nulles formulées au cours de nos analyses afin de vérifier la significativité des différences observées d'un test à l'autre.

5.4. Mesure de la sensibilité des moustiques aux insecticides

Les insecticides qui ont été retenus pour cette étude sont:

- perméthrine aux concentrations de 0.25% et 1%
- deltaméthrine à la concentration de 0.025%
- DDT à la concentration de 4%

5.4.1. Test de sensibilité avec les papiers imprégnés

*Préparation des solutions d'insecticide

Les dilutions d'insecticide sont préparées à partir de la matière active pure (solution, poudre) dans un mélange d'acétone et d'huile. L'acétone est le solvant de base utilisé dans la plupart des cas quand on veut solubiliser une matière active. Comme ce produit s'évapore très vite, il laisse des dépôts de gros cristaux dans le cas de matières actives cristallines. Ces dépôts présentent deux inconvénients: ils ne sont pas très homogènes et ils s'en vont très facilement lorsqu'on manipule ou stocke des papiers imprégnés. En mélangeant la solution acétonique à un produit non volatil tel que l'huile, on retarde l'évaporation et on obtient un dépôt plus fin, plus homogène et plus stable. Le type et la densité spécifique de l'huile utilisée varient suivant l'insecticide:

Tableau 4: Produits techniques utilisés pour l'imprégnation des papiers

	Huile Risella densité (0.864)	Huile d' Olive densité (0.9165)	Huile Silicone densité (0.98) Dow corning 556 cosmetic grade
Insecticides	DDT Dieldrine Autres Organochlorés	Malathion Fenitrothion Bendiocarb Propoxur Autres Organophosphorés et autres carbamates	Perméthrine Deltaméthrine Lambdacyhalothrine cyfluthrine autres pyréthrinoïdes Fipronil Autres phényl- pyrazoles

En théorie il serait préférable que tout le monde utilise les mêmes papiers fournis par l'OMS afin de permettre une comparaison rigoureuse des résultats obtenus. En pratique, cela pose un problème, car ces papiers imprégnés ne se conservent pas longtemps et il n'est pas toujours aisé d'avoir par l'OMS toutes les concentrations dont on a besoin. De fait, les papiers sont presque périmés quand ils arrivent chez l'utilisateur ou quand ce dernier est prêt à les utiliser. Ainsi il est souvent nécessaire lorsqu'on conduit des recherches sur la résistance, d'imprégner ses propres papiers en suivant le protocole standard de l'OMS (Annexe 1).

****Préparation des papiers**

On utilise du papier filtre Whatmann (ref 1002917 ou n°1) dont le poids fait 90g/m². Le papier à imprégner est découpé en rectangle de 15cm x 12 cm soit 0.018 m². Avant l'imprégnation, on écrit la date, le nom et le pourcentage de l'insecticide sur une face du papier. L'imprégnation se fait sur la face opposée avec 2ml de mélange par papier. On dépose le papier sur une planchette à clous calibrée, disposée les pointes vers le haut. Il faut qu'il y ait suffisamment de clous pour que le papier ne fasse pas de poches lors de l'imprégnation. A l'aide d'une pipette en verre de 2ml équipée d'une poire, on répartit uniformément au goutte à goutte les 2ml de dilution sur toute la surface du papier. Les papiers sont ensuite séchés durant 24 h à température ambiante, puis emballés 5 par 5 pour une même concentration dans du papier aluminium. Ces papiers aluminium sont ensuite

rangés au réfrigérateur (4°C) et se conservent pendant 3 à 6 mois. Un papier imprégné peut être utilisé au maximum 5 fois.

Les essais biologiques suivant le protocole de l'OMS tiennent essentiellement compte de la dose diagnostique. Celle-ci est établie au laboratoire pour chaque insecticide et pour espèce de vecteurs. On établit une courbe d'efficacité de l'insecticide afin de déterminer la CL 100 de la souche sensible de l'espèce. Puis on fixe la dose diagnostique comme étant la dose double de cette CL 100. Les bioessais sur le terrain pour la détermination de la résistance se font avec cette dose diagnostique (Annexe 1).

La quantité d'insecticide contenu dans un papier imprégné est toujours exprimée en % de matière active dans le solvant, sur la base poids/volume. Pour simplifier les calculs avec les pyréthriinoïdes, le volume de solvant correspondant à une concentration de 3.6mg/cm² (648mg par papier) est de 0.66ml par papier (densité du silicone 0.98 : 0.648/0.98). Un papier à 0.25% de perméthrine contiendra 1.65mg de matière active (0.66 x 0.25/100) (Annexe 1). Ce poids pour 180cm² est équivalent à une concentration de 91.7mg/m². La solution d'imprégnation contient 1.3ml d'acétone et 0.7ml de silicone (ou des multiples de ces chiffres). La matière active étant dissoute dans l'acétone, la solution acétonique contiendra 1.65mg de matière active de perméthrine dans 1.3ml soit une concentration de 1269mg/l. On pèsera en fait 1.72mg de produit pur dans 1.3ml (pureté de 0.96), soit 1323mg/l. Pour imprégner 10 papiers, on préparera dans un flacon 7ml de silicone avec 13ml de solution acétonique à 1 323mg/l de produit pur. Pour la deltaméthrine à 0.025% on prendra une solution acétonique à 126.9mg/l.

*****Réalisation du test avec les papiers OMS et interprétation des résultats**

•Préparation des tubes

Les tests sont réalisés dans les tubes OMS en plastique et mesurant 125 mm de longueur et 44 mm de diamètre. Ces tubes sont de 2 sortes: des tubes avec un point rouge sur le côté et appelés "tubes rouges". Ils servent à exposer les moustiques à l'insecticide. Des tubes avec un point vert sur le côté appelés "tubes verts". Ils permettent d'une part de réaliser le test contrôle et d'autre part servent de "tubes d'observation" avant et après l'exposition des moustiques à l'insecticide. Un test normal en une application nécessite un

maximum de 200 moustiques (100 moustiques à tester à la dose diagnostique avec un insecticide donné et les 100 autres servant pour le test contrôle). On dispose pour cela de 5 "tubes rouges" et de 15 "tubes verts" (5 devant servir pour le test contrôle et 10 pour les phases d'observation). Les moustiques testés sont des femelles non gorgées de sang et âgées de 2 à 5 jours. On procède de la façon suivante:

- enrouler dans les "tubes d'observation" de simples papiers filtre non imprégnés (15cm x 12cm) et les maintenir solidement contre les tubes avec des anneaux en argent (2 anneaux dont 1 à chaque extrémité du tube).

- introduire dans chaque tube 20 moustiques en les triant par lot de 5

- garder les moustiques en observation pendant 1 heure afin de ne pas avoir à prendre en compte dans le test, des moustiques "non bien portant"

- Enlever les moustiques "non bien portant" au terme de la période d'observation

- Enrouler respectivement dans les 5 tubes rouges et les 5 "tubes contrôle" des papiers imprégnés d'insecticide et les "papiers contrôle" imprégnés d'acétone et de silicone et les maintenir solidement en place avec des anneaux en cuivre (ces tubes sont appelés "tubes d'exposition").

••Réalisation du test

On relie les tubes 2 à 2 ("tubes d'exposition" et "tubes d'observation") sur un tiroir de glissière de sorte que le côté vert du tiroir soit dirigé vers le tube vert et le côté rouge dirigé vers le tube rouge. Après ouverture des tiroirs, on souffle délicatement pour faire passer les moustiques des "tubes d'observation" aux "tubes d'exposition". Après contrôle du passage, on referme le tiroir et on décroche les tubes en les laissant alignés 2 à 2. Les conditions de tests (température, hygrométrie, lumière, ventilation) doivent être maintenues constantes tout au long de l'année. Mais il peut arriver que l'on soit amené à réaliser certains tests sur le terrain et ces conditions deviennent alors difficiles à respecter. Dans tous les cas, il faut toujours bien noter les conditions dans lesquelles les tests ont été réalisés. La lecture de l'effet kd se fait à intervalles réguliers de 10 minutes en 10 minutes jusqu'à 1 heure, puis les moustiques sont retransférés dans les tubes d'observation où la dernière lecture de kd se fait 30 minutes après (10, 20, 30, 40, 60, 90min). Pour cela, on observe le "tube

d'exposition" par en dessous et on compte rapidement les moustiques assomés par l'insecticide (kd) posés sur la partie inférieure. Cette lecture n'est pas toujours aisée. Il faut être extrêmement rapide et avoir un bon esprit de discernement. Les moustiques assez fragiles et plus ou moins sensibles s'écroulent presque tous ensemble en un moment donné, occupant pêle-mêle toute la surface de la partie inférieure, ce qui rend la lecture assez délicate. En plus, certains moustiques qui visiblement sont sous le choc de l'insecticide ne cessent de s'envoler et de se poser, perturbant ainsi la lecture. Si le comptage ou le tri des femelles n'est pas bien effectué dans les tubes, on peut se retrouver lors de la lecture à prendre les mâles kd pour des femelles et cela va perturber les résultats lors du décompte final de la mortalité.

Le pourcentage de moustiques kd varie en fonction du log du temps et peut faire donc l'objet d'une analyse probit. Les valeurs du kd50 et du kd95 peuvent être calculées. Elles permettent de comparer différents insecticides entre eux ou plusieurs souches de moustiques par rapport à un même insecticide et surtout permettent de détecter de façon précoce une baisse de la sensibilité des moustiques aux pyréthrinoïdes. L'effet kd est observé uniquement pour le DDT et les pyréthrinoïdes. Pour les autres insecticides, il n'y a pas d'effet kd. Après la dernière lecture du kd, les papiers imprégnés sont récupérés avec précaution et replacés dans leur emballage d'origine et stockés au réfrigérateur. Les tubes d'exposition et les anneaux en cuivre sont lavés puis décontaminés à l'éthanol absolu. La lecture de la mortalité se fait 24h après le test.

Les "tubes d'observation" sont placés dans les conditions d'élevage avec un coton de jus sucré placé à la partie supérieure pour nourrir les moustiques. 24h après le test on compte les morts et, les survivants sont placés au congélateur pendant quelques minutes afin de les endormir et pouvoir les compter par la suite. Un contact prolongé des moustiques (les anophèles surtout), avec un support imprégné de pyréthrinoïdes, leur fait perdre assez souvent des pattes. Les moustiques "invalides" (2 ou 3 pattes en moins), mais bien vivants sont comptés comme vivants, même si dans la nature ils ne sont pas viables.

Toute épreuve dans laquelle la mortalité des témoins dépasse 20% est invalidée et doit être recommencée. Entre 5 et 20% de mortalité dans le témoin, on applique la formule d'Abbot (1925).

$$MC = \frac{\text{mortalité test} - \text{mortalité témoin}}{1 - \text{mortalité témoin}} \times 100$$

MC: mortalité corrigée

Les papiers qui ont servi dans nos tests nous ont été fournis en partie par le LIN (Centre collaborateur de l'OMS) et par l'Institut Pierre Richet de Bouaké (IPR). D'autres papiers ont été faits sur place dans notre laboratoire. Chaque papier est normalement utilisé jusqu'à 3 fois. Dans des conditions exceptionnelles on peut aller jusqu'à 5 utilisations, mais pas au delà.

5.4.2. Test de sensibilité avec le tulle moustiquaire

Pour une moustiquaire, on calcule tout d'abord le taux de rétention d'eau par unité de surface. Les dimensions de la moustiquaire sont mesurées afin de calculer sa surface. Elle est ensuite placée au fond d'une bassine d'eau pendant 5 minutes puis égouttée. Le volume d'eau restante est mesuré et la différence d'avec le volume initial correspond au volume de rétention de la moustiquaire. Ce volume est variable suivant le type de tissu. Il est estimé à 30ml par m² pour le polyester multifilament (tulle); il est moindre pour des tissus tels que le Nylon et le polyéthylène et nettement plus important pour le coton. La dilution de la formulation commerciale d'insecticide (en solution aqueuse) se fait dans de l'eau en fonction de la dose d'utilisation et du volume de rétention de la moustiquaire (Annexe 2).

Les pyréthrinoïdes sont utilisées pour imprégner les moustiquaires car ils constituent une barrière chimique qui seule confère aux moustiquaires une efficacité suffisante au niveau communautaire. Les moustiquaires non imprégnées utilisées en campagne de masse n'ont qu'une efficacité très limitée dans la prévention du paludisme. L'insecticide joue le rôle d'une barrière chimique car les pyréthrinoïdes présentent un certain nombre de caractéristiques déterminantes:

-Ils sont **répulsifs**: le moustique ne vient pas au contact de la moustiquaire. La seule présence d'une moustiquaire imprégnée dans une pièce réduit considérablement la pénétration des moustiques (jusqu'à 70% dans certains cas). Cet effet répulsif est difficile à

étudier au laboratoire. Sur le terrain, on peut le faire en faisant des essais dans des cases expérimentales ou cases pièges.

-Ils sont **irritants**: le moustique qui se pose sur une surface traitée est fortement irrité et s'envole immédiatement. S'il se pose sur la moustiquaire à un endroit où il est en contact avec la peau du dormeur, il n'a pas le temps de piquer (ce qu'il ferait très bien si la moustiquaire n'était pas traitée). On parle d'effet excito-répulsif. Cet effet peut se mesurer au laboratoire en pratiquant un test d'irritabilité standardisé. Même s'il y a des trous dans la moustiquaire imprégnée ou que celle-ci est mal bordée, le moustique entré en contact avec elle tend à fuir.

-Ils **agissent très rapidement**: même si un moustique a pu pénétrer dans la moustiquaire, il suffit qu'il y ait eu un bref contact avec l'insecticide pour que ce dernier, agissant très rapidement (effet kd), neutralise le moustique avant qu'il n'ait eu le temps de piquer. Un produit agissant lentement ne neutralisera pas le moustique assez rapidement pour l'empêcher de piquer et donc éventuellement de transmettre. On comprend ainsi l'intérêt qu'il y a à mesurer la rapidité d'action des insecticides, surtout quand il s'agit des pyréthrinoïdes.

-Ils sont **peu toxiques pour l'homme**: le contact prolongé avec une surface traitée (en fait toute la nuit pour les moustiquaires imprégnées) impose d'utiliser des produits à des doses très faibles et très peu toxiques pour l'homme.

Effet répulsif, effet irritant, rapidité d'action et faible toxicité sont 4 des caractéristiques qui expliquent pourquoi les pyréthrinoïdes sont utilisées pour imprégner les moustiquaires. Malheureusement, seuls les insecticides de cette famille présentent simultanément ces 4 propriétés. Il n'existe donc pour le moment aucun alternatif aux pyréthrinoïdes pour l'imprégnation des moustiquaires.

i. Essais biologiques sur les tissus imprégnés

On utilise pour ces tests les cônes standards fournis par l'OMS. Ces cônes sont en chlorure de polyvinyl (PVC) et les moustiques qui n'aiment pas rester sur cette matière tendent à se poser sur le support traité qu'on veut tester. Les moustiques testés sont des femelles non gorgées de sang, âgées de 2 à 5 jours.

Les cônes sont attachés à différents endroits des tissus imprégnés. Les femelles de moustiques sont introduites dans les cônes par lot de 5 pour une durée de contact de 3 min. Puis les moustiques sont prélevés du cône à l'aide d'un aspirateur à bouche et gardés dans des gobelets couverts de tulle. Ils sont nourris au coton imbibé d'eau glucosée. La lecture de la mortalité se fait 24 h après le test. Pour les moustiquaires imprégnées, le temps de contact est réduit à 3 min alors qu'il est de 30 min lorsqu'on teste un dépôt rémanent d'une autre nature. Ce temps réduit a été choisi car il correspond mieux à la réalité, le moustique passant peu de temps sur la moustiquaire à la recherche de son hôte (surtout si elle est traitée). On peut trouver bizarre qu'il suffise de 3 min de contact pour avoir 100% de mortalité alors qu'avec un traitement rémanent avec le même insecticide et la même concentration, il en faut 30. Cela s'explique dans la mesure où 1m² de moustiquaire est en réalité constitué de 80% de vide. La totalité de l'insecticide est en fait concentrée sur une surface beaucoup plus faible (fibres) et la concentration d'insecticide y est donc beaucoup plus forte. Dans ce contexte, un contact de 3 min est suffisant.

En général les moustiques sont testés par lot de 20 dans un même cône pour un temps de contact de 3 min. Cela permet de tester rapidement un nombre assez élevé d'individus, mais présente un certain inconvénient au moment du retrait des moustiques du cône. Du fait de l'effet irritant de l'insecticide, les moustiques ne restent jamais assez longtemps à la même place sur le support traité. Ils sont en mouvement continu de sorte que pour les retirer du cône on dépasse largement le temps de contact de 3 min pour les derniers individus. Par ailleurs soucieux de respecter le temps de contact, ils peuvent être brutalisés lors du retrait à force d'être comprimés au fond de l'aspirateur. Il est donc préférable de les tester par lot de 5 ou tout au plus de 10 pour espérer avoir des résultats reproductibles.

5.5. Test d'irritabilité

Le principe du test consiste à introduire un seul moustique dans le cône au contact d'un papier imprégné ou d'un tulle imprégné, aux doses appropriées, pour étudier son comportement. Dans le cas d'une tulle imprégnée, l'effet irritant du dépôt décroît avec le temps. Il est préférable lorsqu'on veut comparer l'effet de dépôts, de les tester après une

durée de stockage fixe (une semaine par exemple). En général, ce test est réalisé de façon mécanique.

On introduit une à une des femelles non gorgées de sang âgées de 2 à 5 jours dans un cône au contact d'un support imprégné. Après un temps de préobservation fixé à 60 secondes, on attend que le moustique se pose (s'il était en vol à T 60s) ou qu'il s'envole puis se repose dans le cas contraire. Dès qu'il est posé, on déclenche le chronomètre et on l'arrête dès qu'il s'envole à nouveau. Ce temps est appelé "temps de premier envol". Un autre paramètre souvent mesuré est le nombre d'envols du moustique pour un temps variable de contact (5min, 10min 15min...). Cette méthode est très fastidieuse et ne permet pas en plus de tester un nombre important de moustiques. Le Laboratoire de Lutte contre Les Insectes Nuisibles (LIN) à Montpellier a conçu un programme sur Excell, "irritest", qui permet de contourner ces difficultés. C'est ce logiciel que nous avons utilisé pour nos différents tests.

Les femelles âgées de 2 à 5 jours ont été testées. Elles sont introduites une à une dans un cône au contact d'un tissu imprégné. Chaque envol ou chaque pose du moustique sur le tissu est enregistré par l'ordinateur. Ce logiciel permet à la fin de calculer deux valeurs discriminantes. Le **t130"** ou "temps de 1er envol après 30 secondes de contact" et le **t160"** ou "temps de 1er envol après 60 secondes de contact". En fait **t130"** représente la durée de 1er temps de pose 30 secondes après le 1er contact du moustique avec le support imprégné et **t160"** représente la durée de 1er temps de pose 60 secondes après le 1er contact. Deux autres valeurs sont calculées par le logiciel:

- le nombre total d'envols

- le temps total de contact passé par le moustique entre son introduction dans le cône et t130" ou t160".

Le test s'arrête automatiquement à la fin du t160" ou bien 256 secondes, soit un peu plus de 4 minutes après 60 secondes de contact. Si le moustique ne s'est toujours pas re-envolé, le logiciel est alors bloqué en "posé" et il faut recommencer le test. Si le moustique ne s'est pas envolé pour le seuil de 30", le décompte s'effectue à partir du seuil 60". On récupère ce moustique à l'aide d'un aspirateur à bouche et on le place dans un gobelet. Le logiciel "irritest" calcule automatiquement pour t130" et pour t160" les effectifs de moustiques pour 10 classes de temps de pose suivantes: <1", 1"<2", 2"<4", 4"<8", 8"<16", 16"<32",

32"<64", 64"<128", 128"<256", 256"<. On calcule ensuite le pourcentage de moustiques présents dans chaque classe ainsi que les pourcentages cumulés. Ces derniers sont ensuite utilisés pour faire une analyse probit qui permet de calculer le temps pour 50% d'envol des moustiques et le temps pour 95%. Pour la représentation graphique, on choisit le centre des classes soit respectivement 0.5, 1.5, 3, 6s....

5.6. Test de répulsivité

La répulsivité mesure l'action de répulsion qu'exerce à distance un insecticide sur une espèce de moustique donnée. Certains insecticides en pulvérisation intradomiciliaire réduisent considérablement la pénétration des moustiques par rapport aux cases témoins. Dans la plupart des études ayant porté sur les matériaux imprégnés de pyréthrinoïdes, une baisse significative de la densité vectorielle a été relevée dans les maisons traitées par rapport aux maisons témoins. Cet effet répulsif est en général étudié sur le terrain, à l'aide des systèmes "cases pièges". Dans ce système, il s'agit de placer un homme dans une maison sous une moustiquaire traitée à l'insecticide toute une nuit durant. La maison est munie d'une véranda piège donnant la possibilité aux moustiques fortement perturbés de s'enfuir. La nuit tombée, on libère un nombre précis de femelles de moustique à jeun dans la maison. Puis le lendemain on évalue la proportion de moustiques récoltés dans la véranda piège. Dans d'autres systèmes, la maison en plus de la véranda piège, est munie d'une entrée en chicane permettant l'accès de la maison aux moustiques. Dans ce cas précis deux paramètres importants sont mesurés: le pourcentage des "entrées" et le pourcentage des "sorties" ou exophilie donné par la véranda piège. De telles expérimentations sont réalisables au laboratoire, mais s'éloignent un peu de la réalité du terrain. Dans notre étude, nous avons voulu mettre au point un outil de mesure de la répulsivité au laboratoire en nous inspirant du modèle rencontré sur le terrain.

Nous disposons d'une cage cylindrique en verre divisée en 3 compartiments dénomés C1, le compartiment par où on introduit les moustiques; C2, le compartiment du milieu où est disposé un cobaye sous une moustiquaire traitée à la perméthrine 500mg/m² ou à la deltaméthrine 25mg/m² et C3, le compartiment à l'autre extrême muni d'une sortie piégée (fig. 6). Le C1 communique avec le C2 par une petite fente à travers laquelle les

moustiques sont attirés par l'odeur du cobaye. Cent femelles de moustique à jeun sont libérées le soir à partir de 19h00 dans le C1. Le lendemain matin à 8h00, une évaluation des proportions récoltées dans chacun des 3 compartiments est faite afin de déterminer les pourcentages d'entrée et de sortie. Ces deux paramètres permettent de quantifier l'effet répulsif de l'insecticide utilisé. Dans ce volet de l'étude, 3 cas de figure ont été observés:

1) Le tulle de moustiquaire traitée qui abritait le cobaye était à son tour couvert par un autre tulle non imprégné afin d'éviter tout contact physique entre l'insecticide et le moustique.

2) Le tulle traité n'était pas couvert et permettait de ce fait un contact physique entre l'insecticide et le moustique.

3) Outre le fait que le tulle traité n'était pas couvert, le compartiment 1, C1, avait été agrandi.

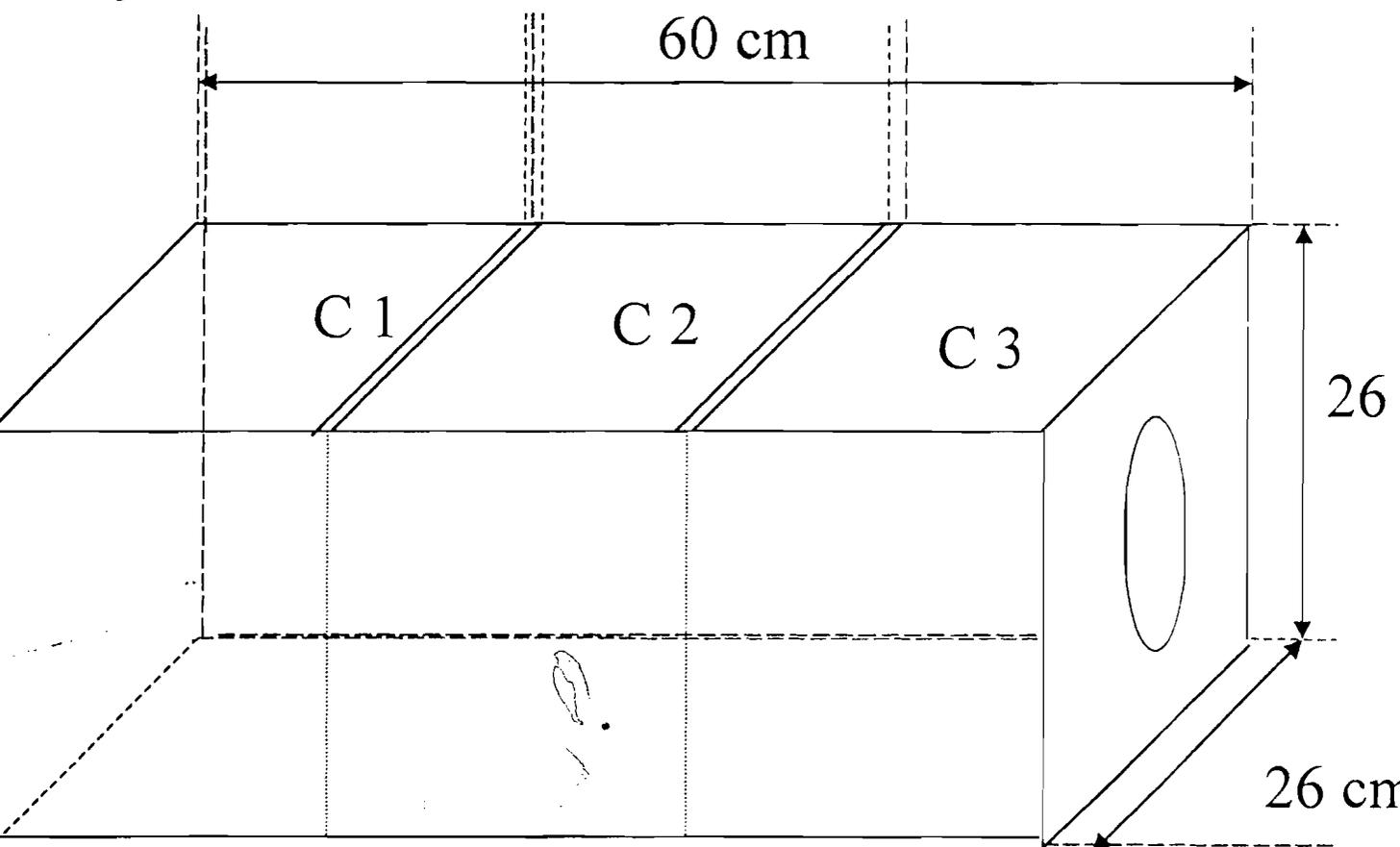


Figure 6. Schéma de la cage d'expérimentation pour la mesure de l'effet répulsif de la perméthrine

5.7 La recherche du gène kdr et la répartition du complexe *An. gambiae*

Le complexe *Anopheles gambiae* est probablement le plus étudié et le plus finement analysé des complexes d'espèces d'intérêt médical. Il regroupe en son sein six espèces présentant une similitude morphologique complète sauf pour les espèces halophiles vis-à-vis des espèces dulçaquicoles. L'emploi généralisé d'insecticides lors des campagnes de lutte antipaludique avec des comportements-réponses très variables et une hétérogénéité dans les capacités vectrices de ce complexe ont fait suspecté l'existence de taxons différents. C'est dans les années 1960 qu'éclata définitivement le complexe grâce à la méthode des croisements avec des souches de références, confirmé par la suite par la cytotaxonomie et la biologie moléculaire. Ces espèces présentent une répartition géographique différente et vivent pour certaines d'entre elles en sympatrie. Deux d'entre elles, *An. gambiae* ss et *An. arabiensis* sont les vecteurs majeurs du paludisme en Afrique tropicale. Quelques études ont été menées au Burkina Faso portant sur l'occupation spatiale de ces espèces. Seules *An. gambiae* ss et *An. arabiensis* sont présentes. Elles vivent en sympatrie dans tous le pays et leur fréquence relative est fonction des conditions climatiques (Robert, 1989).

La différenciation de ce complexe en différentes espèces et la recherche du gène kdr se font aujourd'hui par la PCR (Polymerase Chain Reaction). Le principe de la PCR est basé sur une amplification spécifique d'un fragment d'ADN en de milliards de copies pour le visualiser. La recherche du gène kdr et le diagnostic des espèces a porté sur les spécimens récoltés dans 7 sites de notre zone d'étude. Il s'agit de la Vallée du Kou, Bobo-Dioulasso, Houndé, Boromo, Sabou, Ouagadougou et Kuiti.

L'ADN extrait est porté à haute température afin de le dénaturer (92-95°C). La température est ensuite abaissée en présence d'amorces appropriées dans le milieu de la réaction (30-60°C). Ces amorces comprises entre 15 à 30 paires de bases vont se fixer sur les brins séparés de l'ADN. La température est ensuite remontée en présence de la Taq polymérase (72°C). Cette enzyme est une ADN polymérase. Elle va permettre à partir des amorces fixées et de la présence de bases dans le milieu de la réaction, de compléter les brins manquant de la double hélice initialement séparée. A la fin du premier cycle, on se retrouve avec 2 "double brins" d'ADN. Soit 2^1 ADN. Si on reprend le cycle n fois, on se

retrouve avec 2ⁿ ADN à la fin du cycle. Le fragment d'ADN ainsi amplifié se retrouve en de milliards de copies et peut alors être facilement visualisé (Annexe 3, 4, 5, 6 et 7).

6.RESULTATS

6.1 Test de sensibilité avec les papiers imprégnés

i La souche de référence, "Kisumu": Souche d'*An. gambiae* sensible aux insecticides.

La souche Kisumu a été testée avec 3 insecticides différents aux doses diagnostiques établies par l'OMS avec des résultats variables de mortalité allant de 93% à 100% (tableau 5).

Tableau 5. Pourcentage de mortalité de la souche Kisumu 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	perméthrine 1%	deltaméthrine 0.025%	DDT 4%	témoins
	n=272	n=86	n=102	n=165	n=162
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	22.5 (21.3-23.9)	<10	20 (18.8-21.3)	30.3 (25.7-35.7)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	43 (39.9-46.5)	<20	31.7 (29.3-34.3)	49.9 (38.8-64.1)	pas de kd
Mortalité	92.9%	100%	94.1%	100%	1.2%

Aux doses diagnostiques respectives de 0.25% et de 0.025% la perméthrine et la deltaméthrine n'ont donné que 92.9% et 94.1% de mortalité. Ceci résulterait du fait que la température était par moments trop élevée. En principe, la température est sensée dans ce genre de test être maintenue en dessous de 30°C d'autant plus que les pyréthrinoïdes ont une action négativement corrélée avec celle-ci. En général, une dose diagnostique est sensée provoquer une mortalité de 100% sur une souche sensible, alors on ne parlera avec certitude de résistance dans le cas d'une souche de terrain testée que lorsque celle-ci observe un taux de survie de l'ordre de 20%. Malheureusement dans notre cas, Kisumu a donné des mortalités inférieures à 100% aussi nous sommes nous proposés une marge de sécurité en imprégnant les papiers avec la perméthrine à la concentration de 1%. Puis nous avons décidé de considérer comme cas de résistance, toute souche de terrain ayant donné au moins un taux de survie de l'ordre de 30% aux doses de 0.25% et de 0.025%. Le test réalisé

à la perméthrine 1%, soit 4 fois la dose diagnostique, a donné une mortalité de 100% sur un échantillon de 86 spécimens. Avec cette concentration, nous avons considéré comme cas de résistance, toute souche qui a donné plus de 5% de survivants.

Le DDT testé à la dose diagnostique de 4% a donné une mortalité de 100% sur 165 spécimens. Dans ce cas une souche de terrain qui donne moins de 95% de mortalité est considérée comme portant en son sein des éléments résistants. Le test contrôle n'a donné que 1.2% de mortalité sur un échantillon de 162 spécimens.

L'analyse de l'effet "kd" sur logprobit établie sur la base d'une droite de régression pondérée d'équation

$$y = b + ax$$

où y exprime le pourcentage de "kd" en fonction du log-temps (x) donne une droite parfaite avec la perméthrine à 0.25% et des droites assez parfaites pour la deltaméthrine et le DDT (fig. 7). Les valeurs de kd50-kd90 obtenues sont de 22.5-43 min pour la perméthrine, de 20-31.7 min pour la deltaméthrine et de 30.3-49.9 min pour le DDT. Cela signifie que 50% des moustiques sont "kd" après 21.68 min de contact avec la perméthrine, 20 min avec la deltaméthrine et 30.3 min avec le DDT. Ces paramètres n'ont pas pu être obtenus avec la perméthrine 1% à cause du faible nombre de points qui n'a pas permis de tracer la droite. En effet dès le deuxième temps de mesure déjà (20 min de contact), nous avons obtenu 100% de kd.

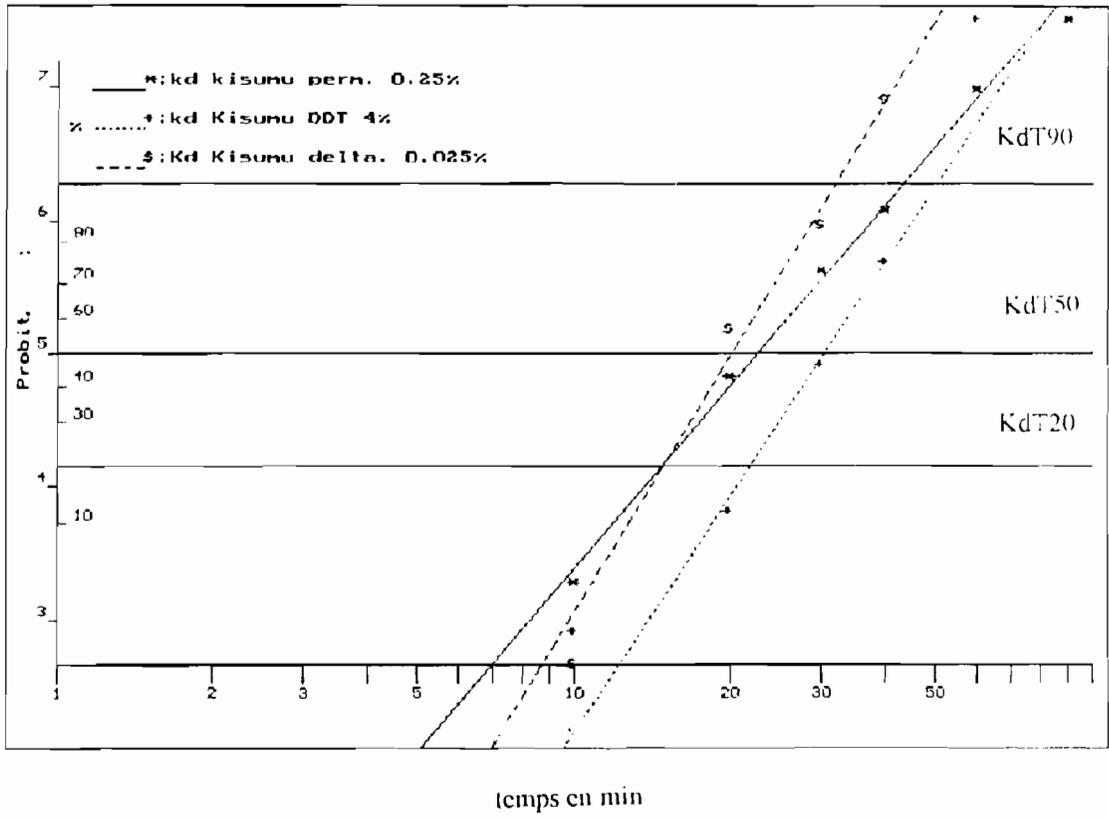


Figure 7. Effet knockdown (kd) de 3 insecticides sur la souche Kisumu

ii Sensibilité des souches de la zone cotonnière

La zone cotonnière prend en compte 3 sites de notre zone d'étude: Soumouso, Houndé et Boromo. Les tests réalisés dans ces localités attestent de la présence des populations résistantes à la perméthrine et au DDT à Soumouso et à Houndé. A Boromo, par contre une sensibilité parfaite a été obtenue au DDT et à la perméthrine (tableaux 6, 7 et 8). Une sensibilité assez bonne a été aussi obtenue à la deltaméthrine dans la localité de Soumouso

A soumouso, les tests ont été réalisés avec 3 insecticides dont 2, (DDT et Deltaméthrine), aux doses diagnostiques et la perméthrine aux doses de 0.25% et de 1%. Le test contrôle réalisé sur 104 spécimens a donné une mortalité de 6.7%. Ainsi les mortalités obtenues lors des tests des insecticides ont été exprimées en mortalité corrigée en utilisant la formule d'Abbott:

$$MC = \frac{\text{mortalité test} - \text{mortalité témoin}}{1 - \text{mortalité témoin}} \times 100$$

Les mortalités obtenues sont de 87.1% pour la perméthrine 1%, de 86.1% pour la deltaméthrine et de 63.6% pour le DDT (tableau 6). On peut observer une différence significative de la sensibilité de cette souche entre la perméthrine et le DDT d'une part ($\chi^2=28.27$ et $P<0.0001$) et d'autre part entre la deltaméthrine et le DDT ($\chi^2=17.43$ et $P<0.0001$).

Tableau 6: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* sl de la localité de Soumouso, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25% n=180	perméthrine 1% n=192	DDT 4% n=189	deltaméthrine 0.025% n=99	témoins n=104
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	ND*	15.7 (10.3-24.4)	45.1 (37.5-54.2)	16.7 (11.7-23.6)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	ND	60 (35.5-101.4)	113.2 (77.2-165.7)	38.1 (25.2-57.8)	pas de kd
Mortalité en 24h	31.1%	87.1%	63.6%	86.1%	6.7%

ND:non déterminé

Le tracer de la droite de régression pour l'analyse du kd avec le DDT donne les mêmes valeurs de Kd jusqu'à 20 min de contact entre la souche Kisumu et la souche de Soumouso (fig 8). Au delà de 20 min, les 2 droites divergent, Soumouso ayant une pente plus faible de sorte que pour un même temps de contact, les pourcentages de kd varient légèrement en debut de contact la base des droites et très fortement par la suite. Les valeurs de kd50-kd90 enregistrées à Soumouso sont respectivement de 45.1 min et de 113.2 min. Comparées aux valeurs obtenues avec la souche Kisumu, nous obtenons une agmentation respective de 1.48 et de 2.26 (fig 8).

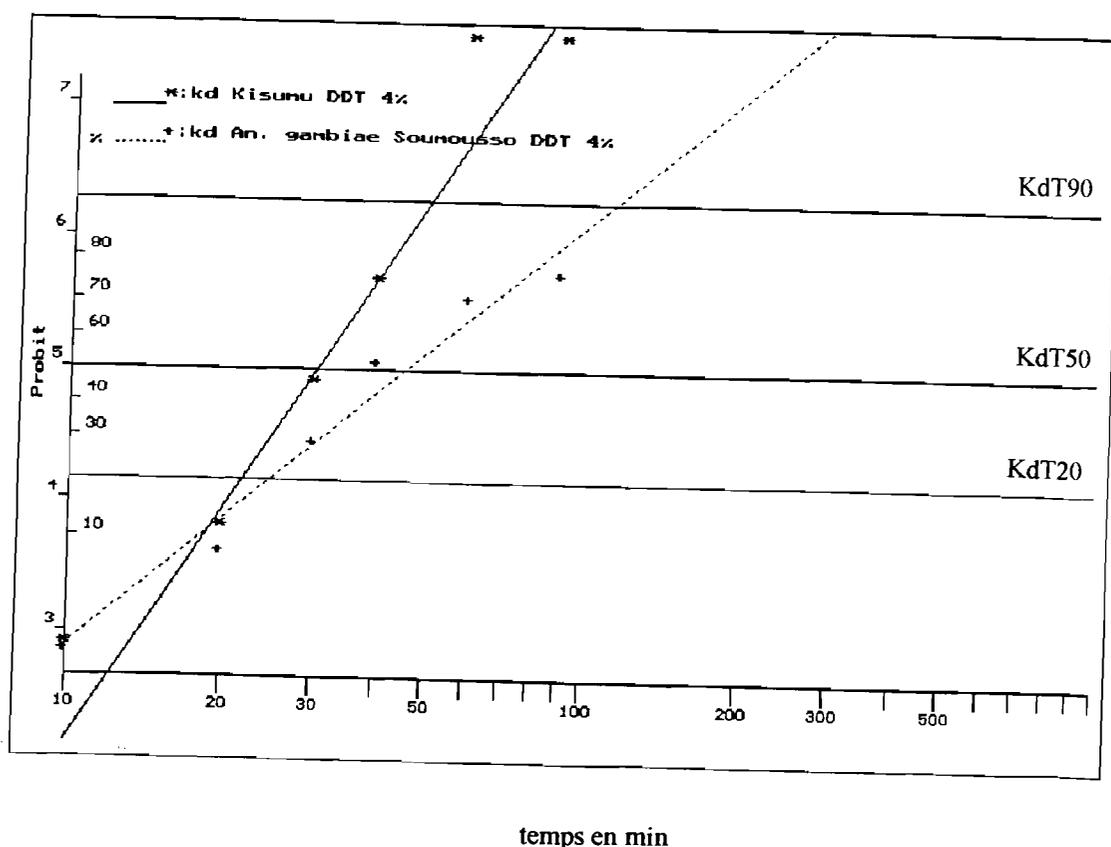


Figure 8. Effet knockdown (kd) du DDT sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Soumouso

Quant à la perméthrine 1%, les valeurs de kd enregistrées sont de 15.7-60 min (fig 9). Ces valeurs attestent d'une résistance certaine de la population de Soumouso à la perméthrine, puisque à 20 min seulement de contact avec la perméthrine 1%, la souche Kisumu donnait 100% de kd. Quant à la deltaméthrine, l'allure des droites montre que les 2 souches sont sensibles à ce produit (fig. 10). Les droites se croisent au delà du kd50 et indiquent une simple tendance de résistance à l'effet kd de la souche de Soumouso. Mais cette différence observée n'est guère significative, puisque les intervalles de confiance des 2 droites se chevauchent tant avec le kd50 qu'avec le kd90 (tableaux 5 et 6).

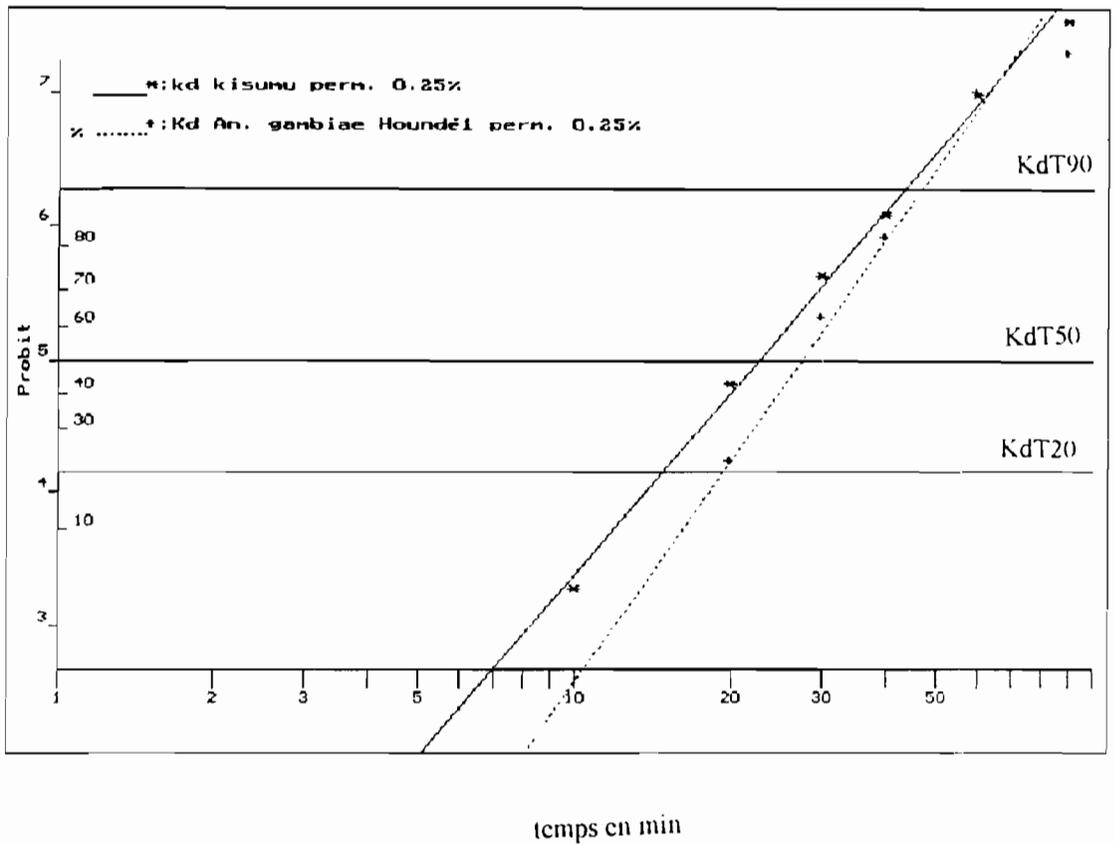


Figure 11a. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Houndé-test réalisé en Mai 97

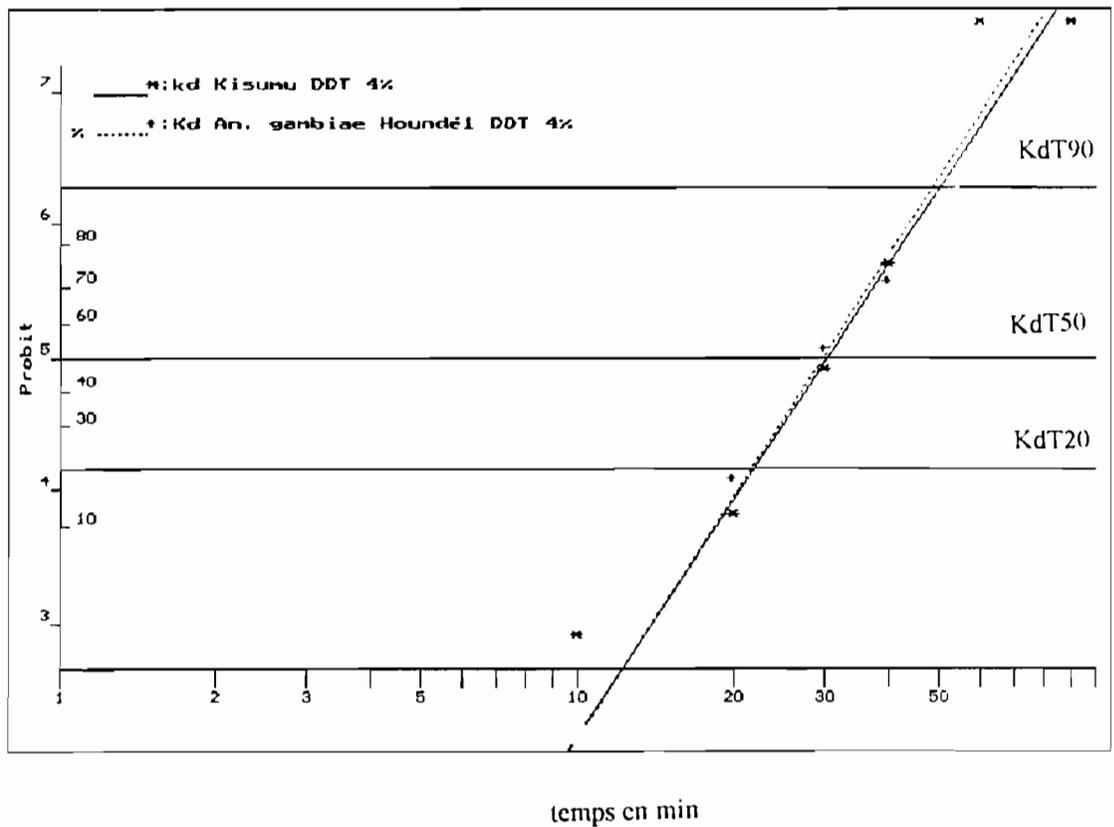


Figure 11b. Effet knockdown (kd) du DDT sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Houndé-test réalisé en Mai 97

Les tests réalisés dans la localité de Houndé ont porté sur la perméthrine 0.25% et le DDT 4%. Dans ce site d'étude, 2 cas de figure se rencontrent:

Le premier test a été réalisé au début de la saison des pluies en Mai. Les résultats de ce test indiquent une bonne sensibilité de *An. gambiae* sl. à la perméthrine et une faible résistance au DDT avec des mortalités respectives de 86.2% et de 87.3% (tableau 7a).

Tableau 7a: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* sl de la localité de Houndé récoltées au mois de Mai 97, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	DDT 4%	témoins
	n=87	n=79	n=84
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	27.4 (25.6-29.2)	29.7 (27.8-31.6)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	46.5 (42.2-51.2)	48.3 (43.6-53.4)	pas de kd
Mortalité en 24 h	86.2%	87.3%	3.6%

Les valeurs de kd respectives enregistrées étaient de 27.4-46.5 min et de 29.7-48.3 min (fig 11a et 11b). La droite de régression du kd des souches de Houndé à la perméthrine 0.25% est légèrement dissociée vers la droite de celle de la souche Kisumu, mais les droites se rejoignent au delà du kd90. Ainsi quoique affichant une bonne sensibilité à la perméthrine, à en juger par la valeur de la mortalité, les souches de Houndé présentaient déjà une augmentation de 1.26 et de 1.18 des valeurs de kd. La droite de regression du kd avec le DDT est quasiment confondue à celle de la souche kisumu (fig 11b).

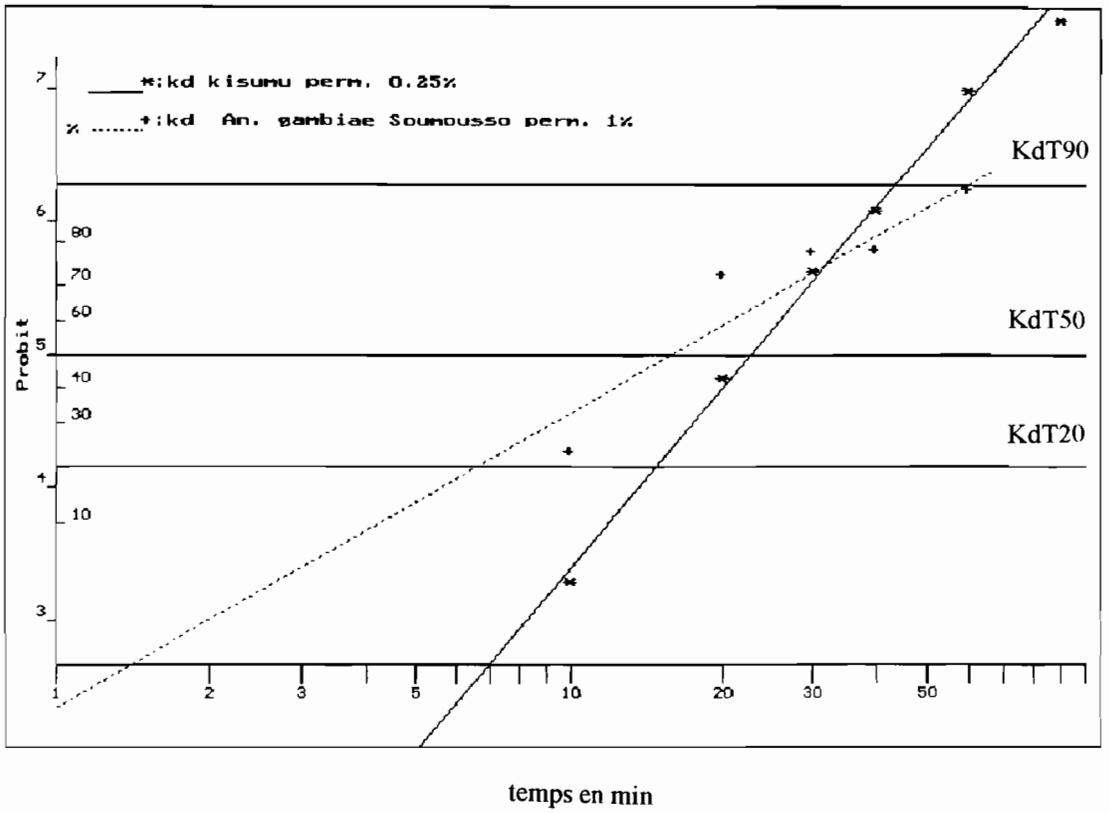


Figure 9. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Soumouso

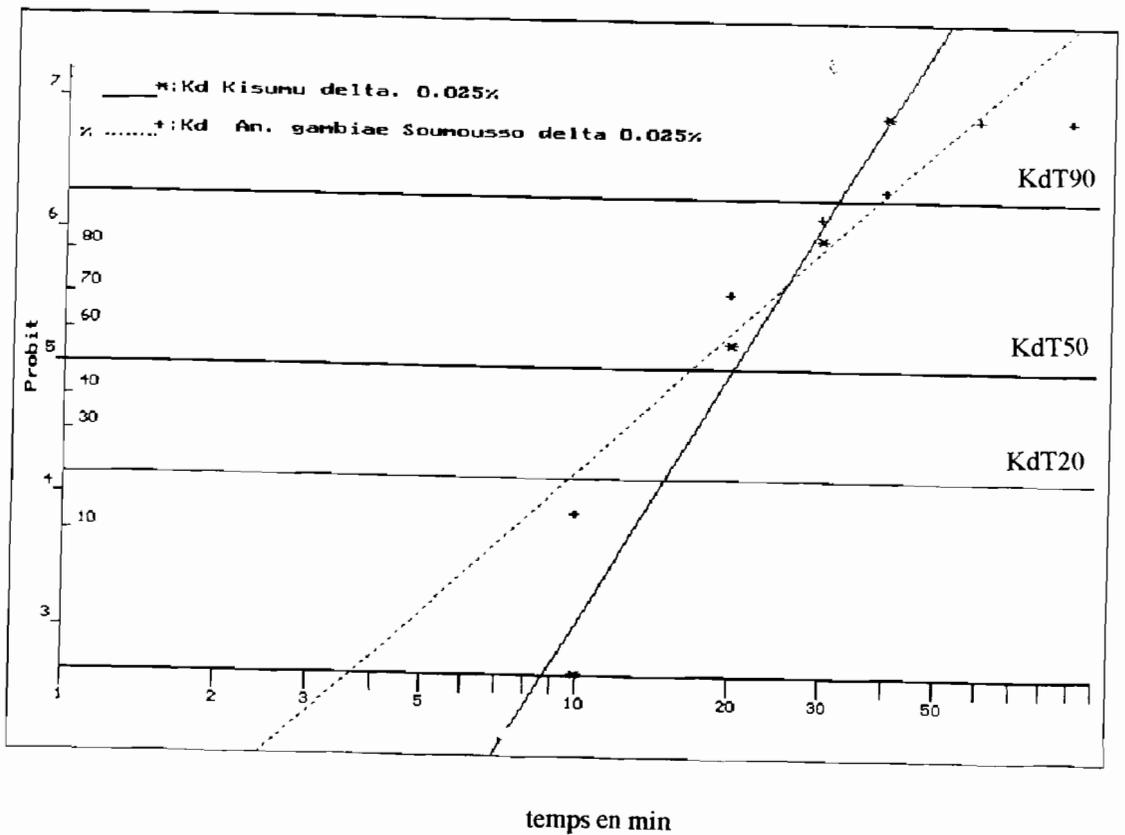


Figure 10. Effet knockdown (kd) de la deltaméthrine sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Soumouso

Le deuxième test a été réalisé au mois d'Août, soit 3 mois après. Les mortalités enregistrées étaient de 27% avec la perméthrine et de 57.8% avec le DDT (tableau 7b) soit une réduction respective de 68.6% et de 33.8% par rapport au premier test. La souche s'est montrée nettement moins sensible avec une différence qui a largement atteint le seuil de la significativité car $P << 0.0001$ avec des $\chi^2 = 74.2$ et 19.1 . Les valeurs de kd, 55.3-135.4 min et 45.2-80.2 min ont significativement augmenté de 2 fois à la perméthrine et de 1.5 fois au DDT (fig 11c/d). Par rapport à la souche Kisumu, la droite de régression avec la perméthrine est fortement décalée vers la droite avec une augmentation significative de 2.55 fois et de 3.45 fois du kd50 et du kd90. Avec le DDT, l'augmentation, quoique bien visible, est moins nette que celle d'avec la perméthrine. Elle est de 1.49 fois et de 1.60 fois.

Tableau 7b: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* sl de la localité de Houndé récoltées au mois d'Août 97, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	DDT 4%	témoins
	n=111	n=109	n=73
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	55.3 (50.6-60.4)	45.2 (42.6-47.9)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	135.4 (111.9-163.9)	80.2 (72.4-88.8)	pas de kd
Mortalité	27%	57.8%	4.1%

A Boromo les tests ont porté sur *An. funestus* (perméthrine 0.25%) et sur *An. gambiae* sl. (perméthrine 1% et DDT 4%).

An. funestus enregistre une mortalité de 86.95% après correction par la formule d'Abbott, car la mortalité contrôle était de 8.33% (tableau 8a). La mortalité ainsi observée témoigne d'une bonne sensibilité de la population d'*An. funestus* de Boromo vis-à-vis de la perméthrine quoique la taille de l'échantillon testé soit quelque peu faible (43 spécimens).

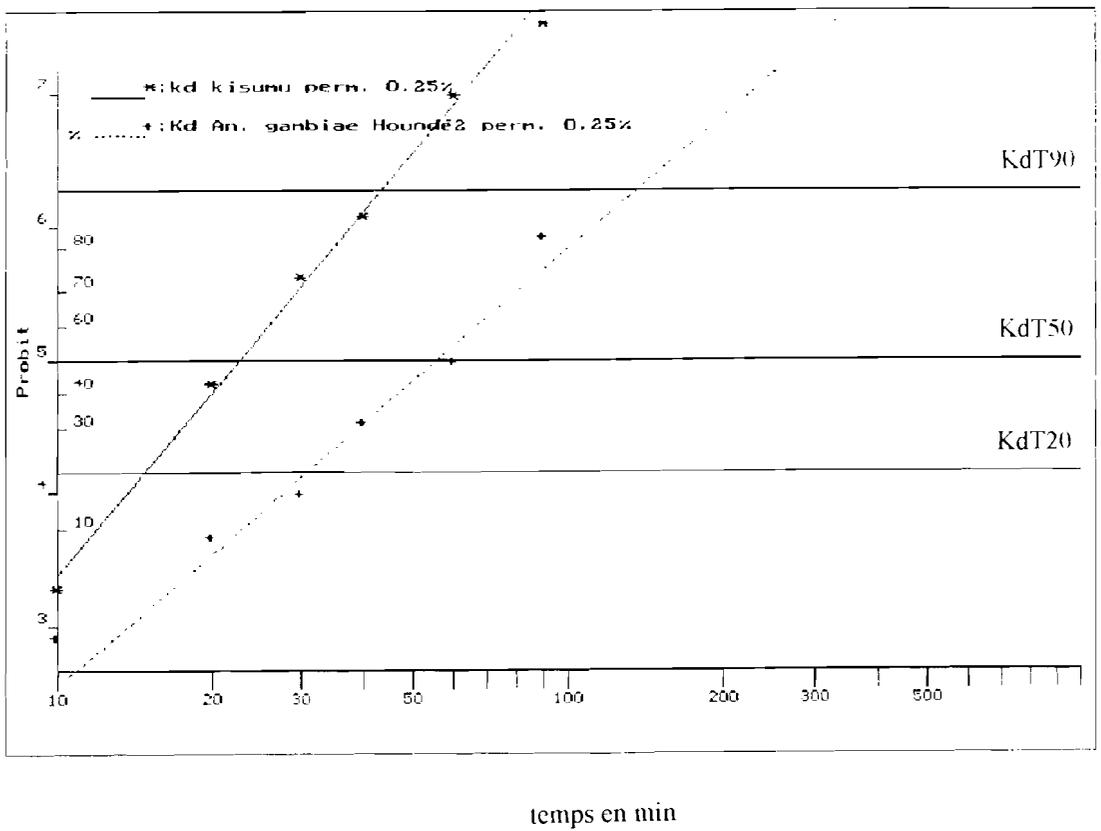


Figure 11c. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Houndé-test réalisé en Août 97

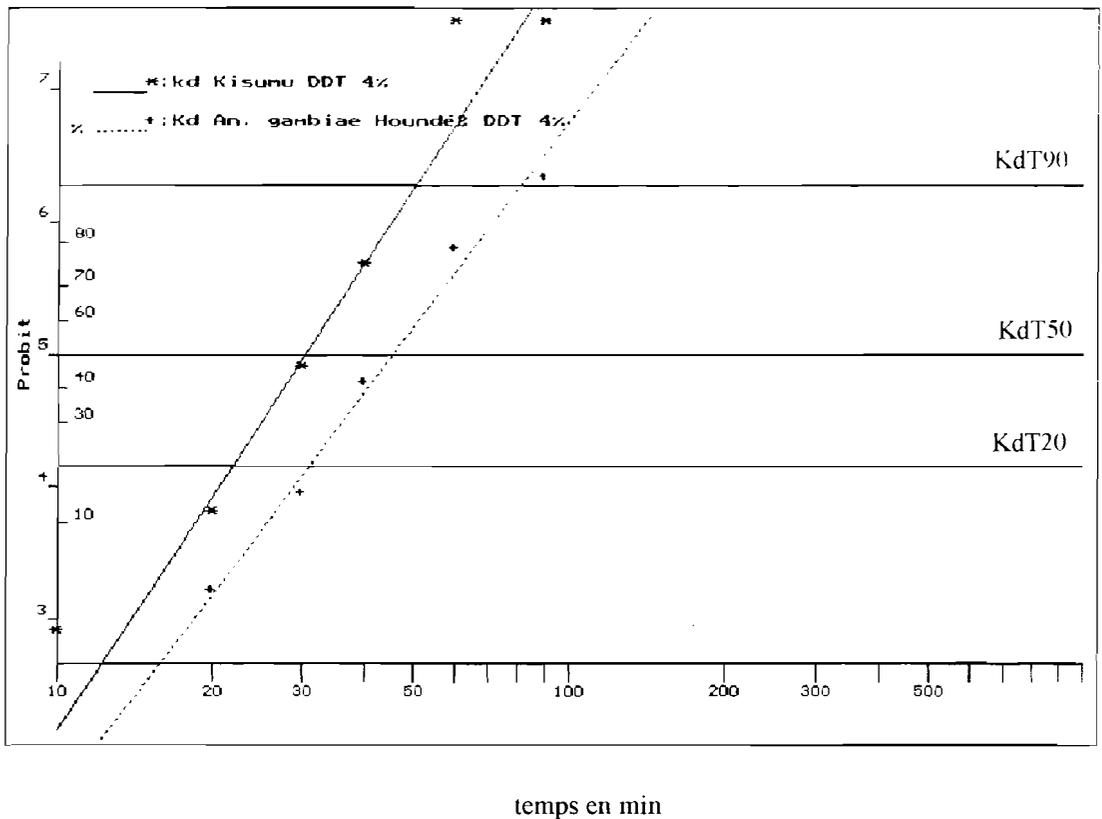


Figure 11d. Effet knockdown (kd) du DDT sur une population d'*An. gambiae* sl. de la localité de Houndé-test réalisé en Août 97

L'analyse du kd donne des valeurs de 17.1-34.2 min (fig 12a). La droite de régression du kd est située en retrait à gauche de celle de la souche de kisumu avec un bon parallélisme et atteste d'un excellent effet kd de la perméthrine sur *An. funestus*.

Tableau 8a: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles funestus* de la localité de Boromo, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	témoins
	n=43	n=12
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	17.1 (14.7-19.9)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	34.2 (28.8-40.7)	pas de kd
Mortalité 24h	86.9%	8.3%

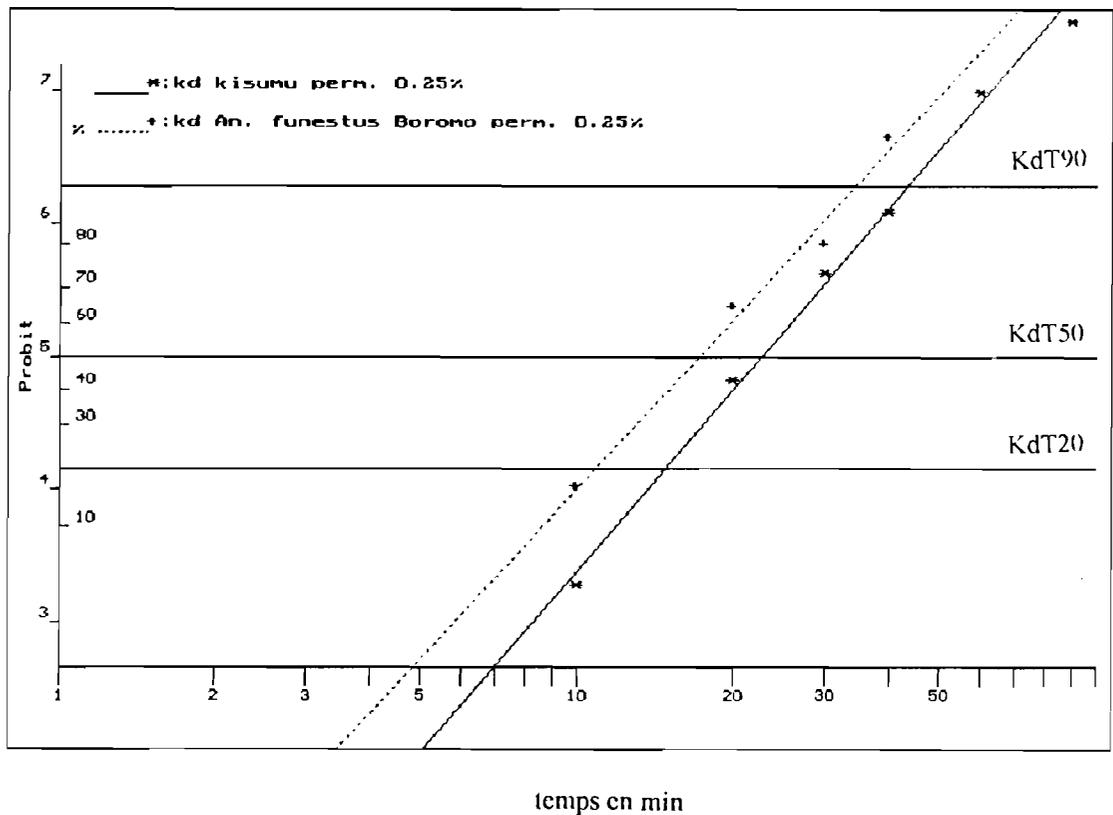


Figure 12a. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. funestus* de la localité de Boromo

La population d'*An. gambiae* sl. montre une bonne sensibilité à la perméthrine et au DDT avec des résultats de 100% de mortalité à la perméthrine 1% et de 94.6% de mortalité au DDT (tableau 8b). Tout comme la souche Kisumu, la souche d'*An. gambiae* sl. de Boromo a enregistré 100% de Kd dès 20 min de contact avec la perméthrine 1%. Quant au DDT, la droite de regression du Kd est légèrement située au dessus de celle de Kisumu avec un très bon parallélisme et affiche les valeurs de kd de 27.5-46 min (fig 13b).

Tableau 8b: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* s.l de la localité de Boromo, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 1%	DDT 4%	Témoins
	n=101	n=92	n=46
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	<10	27.5 (21.5-35.3)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	<20	46 (31.9-66.2)	pas de kd
Mortalité en 24h	100%	94.6%	2.2%

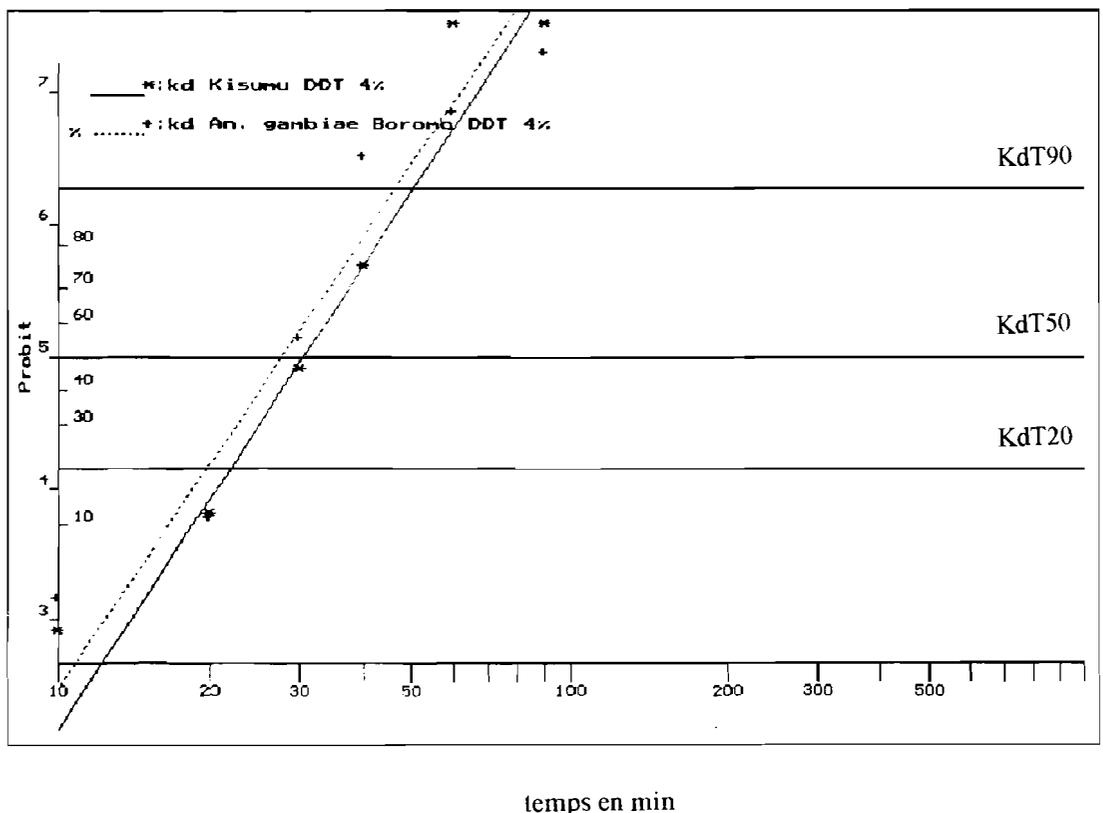


Figure 12b. Effet knockdown (kd) du DDT sur une population d'*An. gambiae* de la localité de Boromo

iii Sensibilité des souches de la zone rizicole

Le site rizicole de notre zone d'étude est la Vallée du Kou, situé à 25 km au Nord de la ville de Bobo-Dioulasso. Les tests qui y ont été effectués, indiquent la présence de population résistante à la perméthrine et une sensibilité assez bonne à la deltaméthrine. Ces tests ont porté sur des spécimens sauvages et sur des spécimens de laboratoire.

La perméthrine 0.25% et 1% et la deltaméthrine 0.025% ont été testées. Sur des échantillons sauvages de 79 et de 78 spécimens, la perméthrine 0.25% et 1% ont respectivement donné 29.1% et 84.6% de mortalité (tableau 9a). Quant à la deltaméthrine, la mortalité obtenue était de 73.9% sur un échantillon de 88 spécimens.

L'analyse du kd avec la perméthrine 0.25% donne une droite qui s'écarte de plus en plus de celle obtenue avec la souche Kisumu vers les forts temps de contact. Les valeurs de kd sont de 49.5-106.1 min soit une augmentation significative de 2.28 fois et de 2.70 fois (fig 13). A la concentration de 1%, la perméthrine a donné 90% de kd dès la 20ème minute de contact.

Tableau 9a: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* s.l de la localité de la Vallée du Kou, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	perméthrine 1%	deltaméthrine 0.025%	témoins
	n=79	n=78	n=88	n=73
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	49.5 (39.4-62.2)	12.6 (9.5-16.7)	ND*	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	106.1 (67.4-167)	20.4 (14.2-29.4)	ND	pas de kd
Mortalité	29.1%	84.6%	73.9%	2.7%

ND:non déterminé

Les tests de sensibilité de la souche de laboratoire ont eu lieu avec de la perméthrine seulement à des concentrations de 0.25% et de 1%. La souche de laboratoire provient d'une collecte matinale à la Vallée du Kou et maintenue au laboratoire pendant 14 générations. Les résultats enregistrés donnent 33.6% de mortalité à la perméthrine 0.25% et 78.6% à la perméthrine 1%. (tableau 9b). Comparés aux résultats de la souche de terrain, les différences ne sont pas significatives avec des valeurs de χ^2 de 0.07 et de 1.04 pour des p de 0.79 et de 0.30.

Si l'analyse de la mortalité donne des valeurs comparables à celles de la souche de terrain, le kd est bien différent. En effet avec des valeurs de 31.5-54.9 min, la souche de laboratoire observe une baisse significative de son kd (de moitié) par rapport à la souche de terrain (fig 12). Cependant l'analyse faite par rapport à la souche Kisumu montre que le kd affiche une augmentation significative de l'ordre de 1.4 fois. Les 2 droites tendent à se rejoindre vers les forts temps de contact avec l'insecticide.

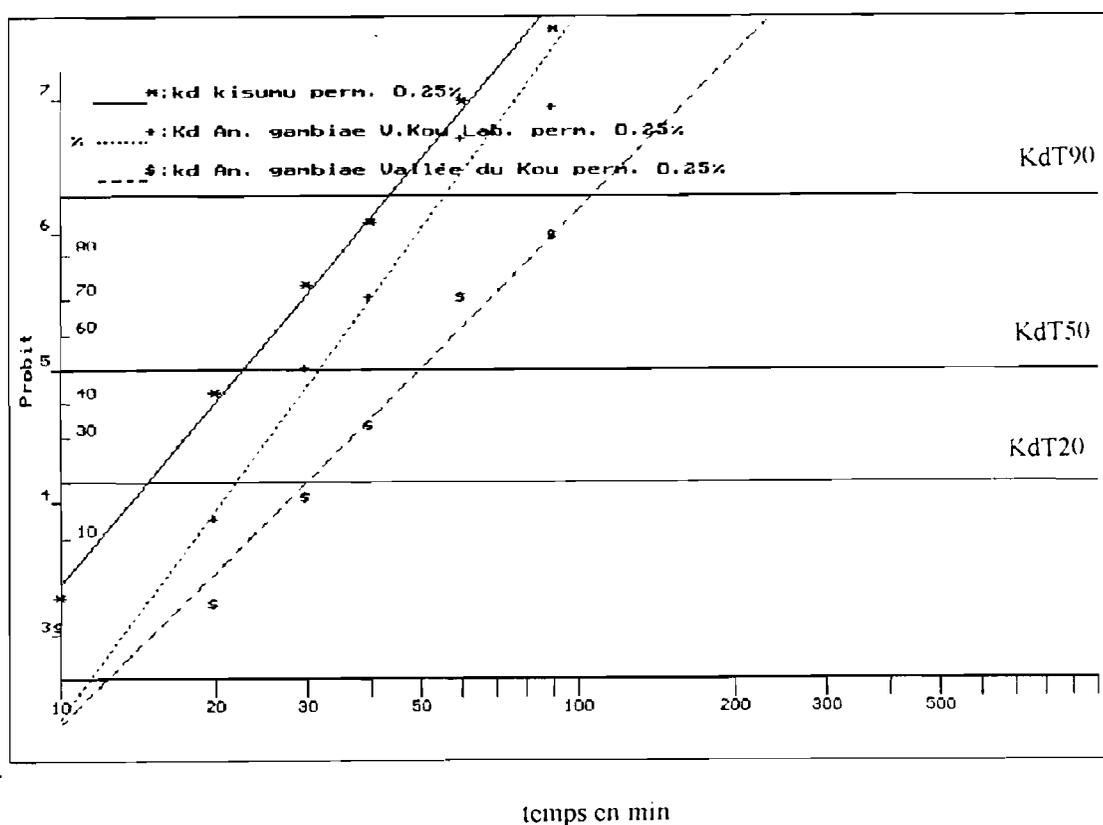


Figure 13. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* de la localité de la Vallée du Kou

Tableau 9b: Mortalité d'une souche de laboratoire d'*Anopheles gambiae* s.l de la localité de la Vallée du Kou, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	perméthrine 1%	témoins
	n=110	n=98	n=106
kd min	31.5 (29.7-33.4)	ND*	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	54.9 (50.2-60.2)	ND	pas de kd
Mortalité 24h	33.6%	78.6%	2.9%

ND:non déterminé

iv Sensibilité des souches de la zone urbaine

Les tests de sensibilité effectués dans les 2 centres urbains, Bobo-Dioulasso et Ouagadougou, font état de la présence de populations résistantes à des degrés variables à la perméthrine et au DDT.

A Bobo-Dioulasso, les tests ont été effectués avec de la perméthrine 1% et du DDT 4%. La lecture de la mortalité au bout de 24 h donne 77.6% à la perméthrine 1% (tableau 10). Cette valeur de la mortalité inférieure à 80% à une concentration quadruple de la dose diagnostique donne la preuve d'une résistance bien forte vis à vis de la perméthrine à Bobo-Dioulasso. Ainsi quand on établit une comparaison du kd par rapport à la souche Kisumu bien que testée à la perméthrine 0.25%, on observe une augmentation significative des kd en faveur de la souche de Bobo-Dioulasso. Les 2 droites se croisent au dessus du kd20 et s'écartent de plus en plus avec de forts temps de contact avec l'insecticide. Les valeurs de kd observées sont de 28.3-123.7 min (fig 14a). On remarque que jusqu'à environ 25 min de temps de contact, le pourcentage de moustiques relevés kd est plus fort chez la souche de Bobo-Dioulasso, mais la tendance s'inverse au delà de ce temps de contact. Ainsi donc, les moustiques qui sont bien sensibles à la perméthrine dans cette souche de Bobo-Dioulasso s'écroulent dès les premières minutes de contact avec une si forte concentration de

l'insecticide. Les autres tentent de résister mais finissent par s'écrouler dans la grande majorité et malgré 1h 30 de temps d'observation, on n'a observé que 89% de moustiques kd.

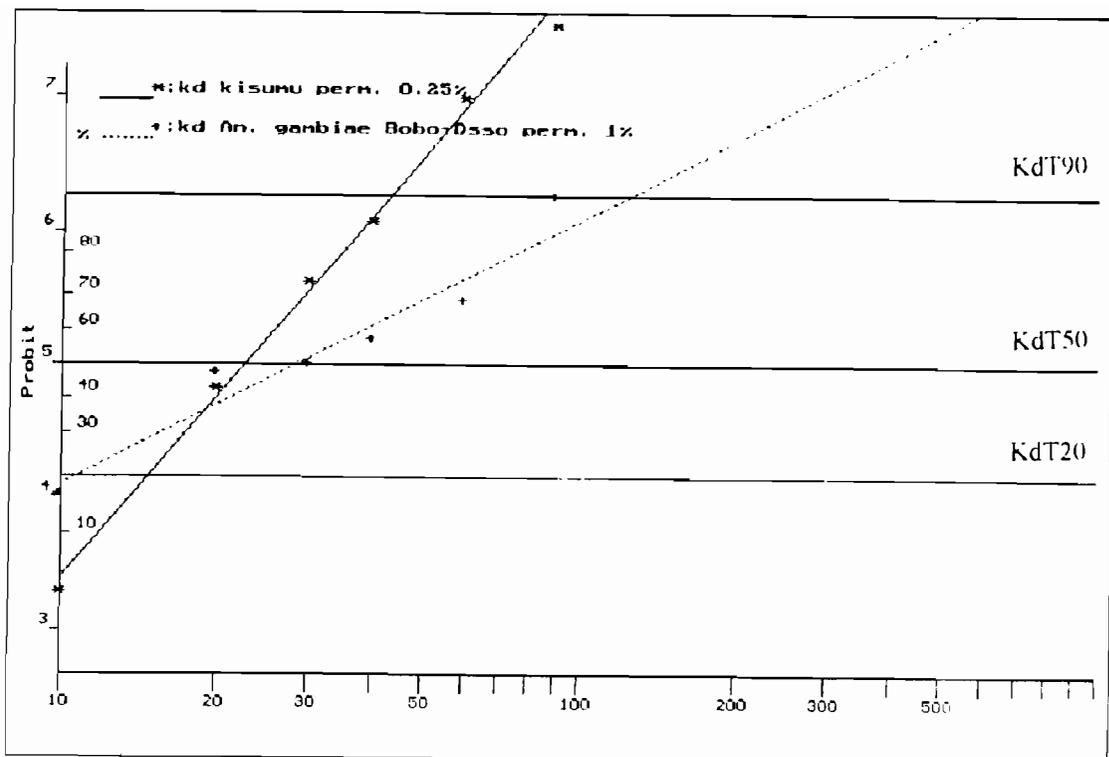
Tableau 10: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* s.l de la localité de Bobo-Dioulasso, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	perméthrine 1%	DDT 4%	témoins
	n=105	n=98	n=96	n=45
Kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	ND*	28.3 (24.9-32.2)	76.1 (65.7-88.1)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	ND	123.7 (93.6-163.6)	228.4 (163.2-319.8)	pas de kd
Mortalité en 24 h	22%	77.6%	38.5%	4.4%

ND: non déterminé

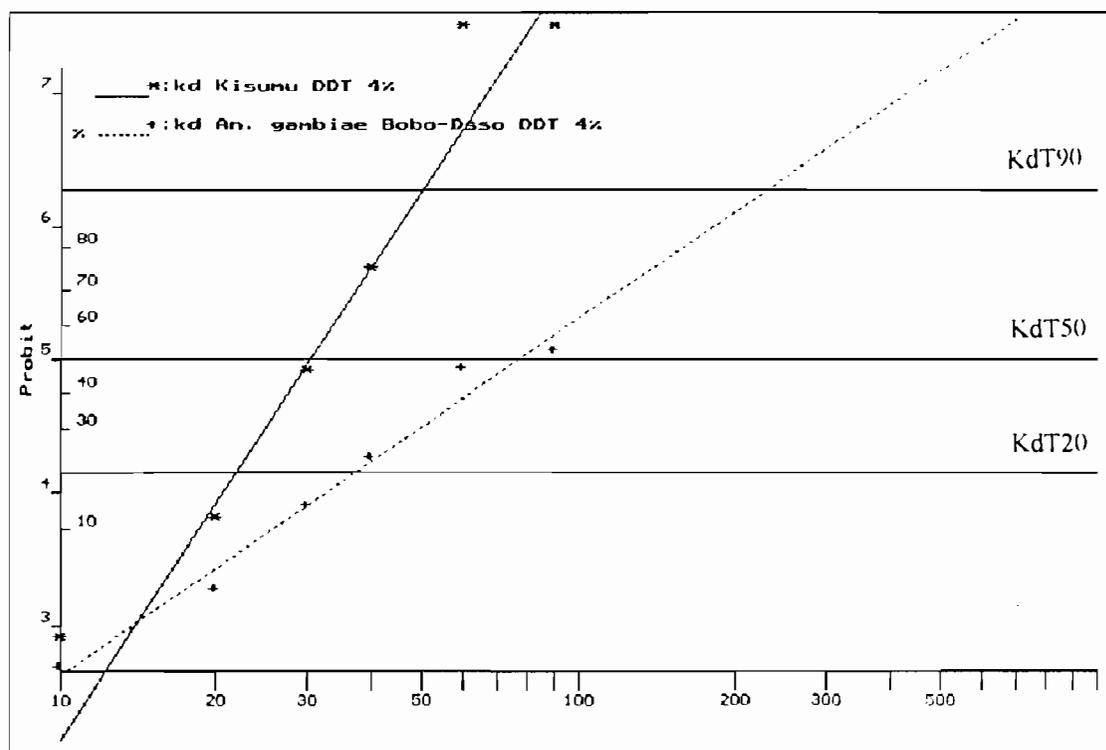
Avec le DDT 4%, la mortalité observée au bout de 24 h était de 38.5% (tableau 10). Cette mortalité très faible atteste également d'une très grande résistance de la souche de Bobo-Dioulasso au DDT. Le kd donne des valeurs de 76.1-228.4 min soit une augmentation significative de 2.51 fois et de 4.58 fois (fig 14b).

Le deuxième centre urbain retenu dans notre étude est la ville de Ouagadougou. Le test a été réalisé avec la perméthrine 0.25% uniquement. Les résultats du test donnent une mortalité de 52.2% avec absence totale d'une résistance de type kdr (tableau 11). Les valeurs de kd sont de 24.4-35.9 min (fig 15). Ces valeurs sont presque identiques à celles obtenues avec la souche kisumu. Cette faible mortalité témoigne de la résistance de la souche de Ouagadougou par rapport à la perméthrine quoique les moustiques ayant été tous relevés kd au bout de 60 min de contact déjà.



temps en min

Figure 14 . Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* de la localité de Bobo



temps en min

Figure 14 . Effet knockdown (kd) du DDT sur une population d'*An. gambiae* de la localité de Bobo

La pente de la droite de régression du kd est très forte, 7.69 et cette droite rencontre celle de la souche Kisumu au dessus du kd50 et s'en écarte de plus en plus au delà du kd50.

Tableau 11: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* s.l de la localité de Ouagadougou, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	témoins
	n=92	n=69
Kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	24.4 (18.1-32.9)	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	35.9 (23.8-54.1)	pas de kd
Mortalité	52.2%	0%

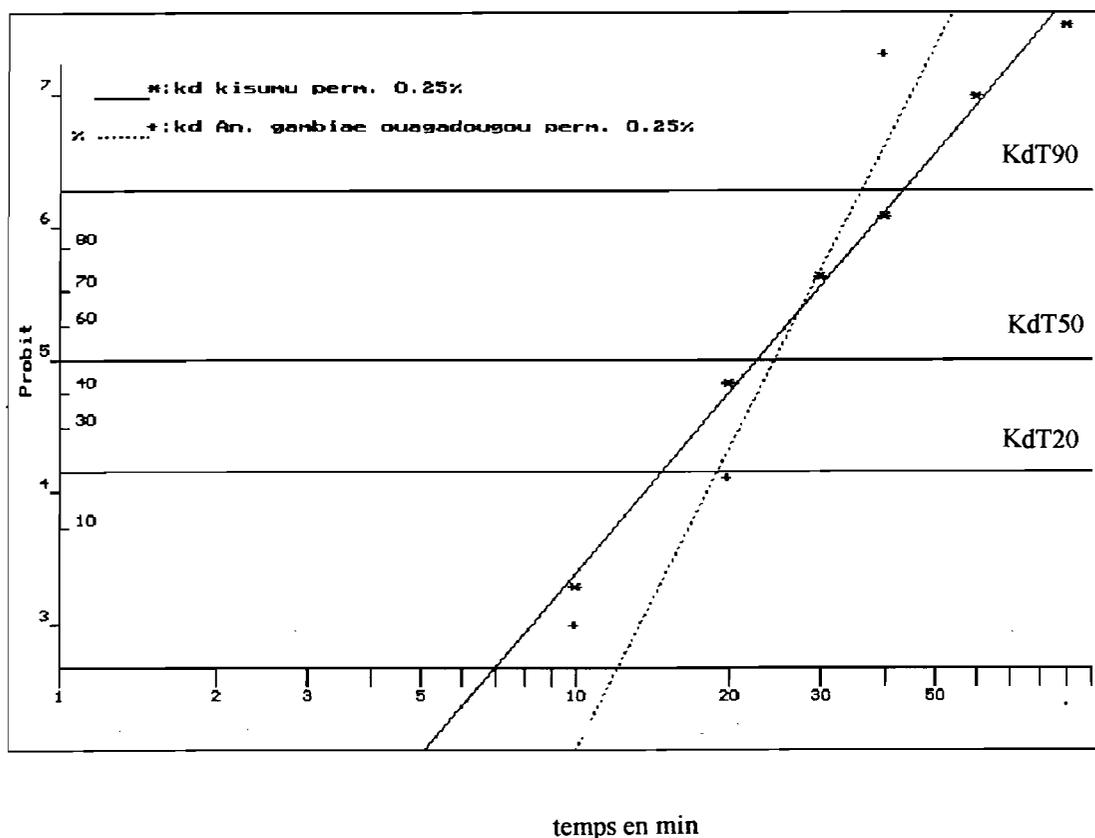


Figure 15. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* de la localité de Ouagadougou

v. Sensibilité ds souches de la zone contrôle

Les résultats de la zone contrôle font état d'une résistance modérée de la population d'*An. gambiae* sl. vis-à-vis de la perméthrine.

Les villages retenus comme zone-contrôle de l'étude sont Sabou et Kuiti, tous deux situés sur le plateau central Mossi distants respectivement de 90 km et de 30 km de Ouagadougou. En raison d'un manque de papiers imprégnés, un test a été effectué à la perméthrine 0.25% et 1% à Sabou uniquement. Quant au village de Kuiti, les moustiques récoltés lors d'une capture matinale ont été uniquement soumis à un test de biologie moléculaire pour la recherche du gène kdr.

Les tests réalisés à Sabou donnent une mortalité de 60.4% et de 96% à la perméthrine 0.25 et 1% (tableau 12). Ces résultats indiquent la présence à un degré moindre d'éléments résistants à la perméthrine au sein de la population d'*An. gambiae* s.l. de Sabou. La mortalité de 60.4% enregistrée avec la perméthrine 0.25% quoique assez faible pour admettre une certaine résistance au sein de la population d'*An.gambiae* sl de Sabou, est nettement supérieure à celles enregistrées, pratiquement le double, à la Vallée du Kou et à Houndé, 2 localités de la zone rizicole et cotonnière. Par ailleurs, la mortalité de 96% obtenue avec la perméthrine 1% s'avère aussi être bien supérieure à celles enregistrées à Bobo-Dioulasso et Soumouso, 2 localités de la zone urbaine et cotonnière.

Tableau 12: Mortalité des femelles sauvages d'*Anopheles gambiae* s.l de la localité de Sabou, 24 heures après l'exposition au test OMS

	perméthrine 0.25%	perméthrine 1%	témoins
	n=96	n=76	n=94
kd50 min (intervalle de confiance à 95%)	42.8 (39.5-46.5)	ND*	pas de kd
kd90 min (intervalle de confiance à 95%)	99.2 (84.6-116.3)	ND	pas de kd
Mortalité	60.4%	96%	2.1%

ND:non déterminé

L'analyse du Kd donne des valeurs de 42.8-99.2 min soit une augmentation significative de 1.97 fois et de 2.53 fois (fig 16). La droite de régression pondérée est assez parfaite et présente une pente relativement faible par rapport à celle de la souche de Kisumu de valeur 3.51 contre 4.98. Mais quand on établit une comparaison avec les autres localités de la zone cotonnière et de la zone urbaine à l'exception de Ouagadougou et de Boromo, on s'aperçoit toujours que les moustiques en provenance de Sabou sont plus sensibles à l'effet kd. Cela est clairement traduit dans le tableau 13, où une différence significative sur la mortalité est obtenue d'avec toutes les souches exceptée celle de Ouagadougou.

Tableau 13: Récapitulatif de la sensibilité d'*Anopheles gambiae* s.l par rapport à la perméthrine 0.25% sivant les localités

	Localités	Mortalité	chi-carré	P*
Zone cotonnière	Soumouso	31.1%	22.18	<0.0001
	Houndé	27%	23.48	<0.0001
Zone rizicole	Vallée du Kou	29.1%	17.08	<0.0001
Zone urbaine	Bobo-Dioulasso	22%	30.92	<0.0001
	Ouagadougou	52.2%	1.30	0.25
Zone témoin	Sabou	60.4%	-	-

*L'hypothèse nulle soumise au test du chi-carré était qu'il n'y avait pas de différence entre les zones cotonnières, rizicole ou urbaines et la zone témoin. La valeur de P indique la probabilité d'observer un chi-carré égale ou supérieur à celui qu'on a obtenu, si l'hypothèse nulle était vraie.

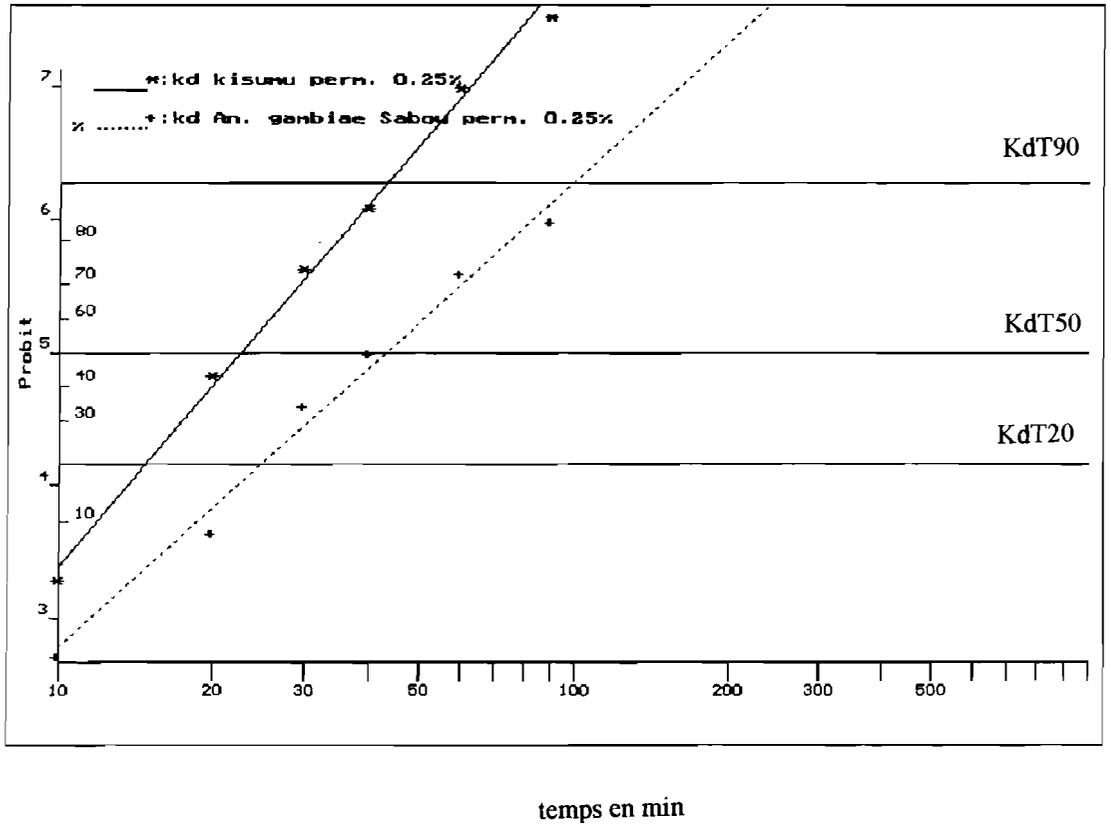


Figure 16. Effet knockdown (kd) de la perméthrine sur une population d'*An. gambiae* de la localité de Sabou

6.2. Mesure de l'efficacité des tissus imprégnés

Trois sortes de tissus (nylon, polyester et coton) ont été testés avec 3 insecticides (perméthrine, deltaméthrine et lambda-cyhalothrine). Ces tests ont porté sur la souche Kisumu, une souche d'*An. gambiae* s.l de la Vallée du Kou maintenue en élevage. Les résultats obtenus sont à l'image des résultats enregistrés avec les tests des papiers imprégnés. *An. gambiae* s.l en provenance de la Vallée du Kou présente une bonne sensibilité à la deltaméthrine et à la lambda-cyhalothrine, mais développe une résistance à la perméthrine.

Les tableaux 14 et 15 montrent la mortalité de 2 souches d'*An. gambiae* s.l suite à 3 min de contact avec les différents tissus imprégnés.

Tableau 14: Mortalité de la souche Kisumu suite à 3 min de contact avec les tissu traités

	Nylon		Polyester		Coton	
	N*	M**	N	M	N	M
lambda-cyhalothrine 25mg/m ²	176	98.9%	177	99.4%	181	98.3%
deltaméthrine 25mg/m ²	179	100%	169	98.8%	186	97.8%
deltaméthrine 50mg/m ²	172	100%	185	100%	186	100%
perméthrine 750mg/m ²	124	99.2%	-	-	-	-
perméthrine 1000mg/m ²	104	100%	-	-	-	-

N=nombre d'individus testés

M=mortalité au bout de 24 heures

Tableau 15: Mortalité d'*Anopheles gambiae* s.l (Vallée du Kou) suite à 3 min de contact avec les tissus traités

	Nylon		Polyester		Coton	
	N	M	N	M	N	M
lambda-cyhalothrine 25mg/m ²	181	97.8%	177	93.2%	187	94.7%
deltaméthrine 25mg/m ²	189	98.9%	176	93.8%	179	96.6%
deltaméthrine 50mg/m ²	184	100%	183	100%	166	100%
perméthrine 750mg/m ²	112	84.37%	-	-	-	-
perméthrine 1000mg/m ²	109	88.52%	-	-	-	-

Quels que soient le tissu, l'insecticide ou la dose utilisés, la mortalité enregistrée avec la souche Kisumu avoisine 100%. La souche provenant de la Vallée du Kou enregistre 94% de mortalité avec la lambda-cyhalothrine et la deltaméthrine et ce quel que soit le tissu. Les différences minimales observées d'un tissu à l'autre pour les deux insecticides à la dose de 25mg/m² fait état d'une mortalité faiblement élevée avec le nylon qui enregistre une fourchette de 97.8-98.9% de mortalité contre 93.2-93.8% pour le polyester, les plus faibles mortalités. Quant à la perméthrine le test a porté seulement sur le tissu nylon aux doses de 750 et 1000mg/m². Si la souche kisumu affiche une mortalité de 100% à ces concentrations données, il n'en est pas de même de la souche de la Vallée du Kou qui enregistre 84.4% de mortalité à la dose de 750mg/m² et de 88.5% à 1000mg/m².

6.3.Le test d'irritabilité

Ce test a porté sur du nylon imprégné à la perméthrine 50 et 500 mg/m². Au total 2 souches de moustiques ont été testées: la souche Kisumu et la souche VkPer; une souche d'*An. gambiae*, homozygote résistante à la perméthrine, portant le gène kdr sur les 2 allèles.

Les résultats obtenus témoignent d'un bon effet irritant de la perméthrine sur les 2 souches.

La figure 17 représente les résultats des tests d'irritabilité réalisés sur les souches Kisumu et VKPer. On observe une très bonne irritabilité de la souche Kisumu par rapport à la perméthrine puisque 50% des moustiques s'envolent à 10.92 secondes après avoir été au contact d'une moustiquaire traitée à seulement 50 mg/m². Avec la dose d'application sur le terrain, 500 mg/m², 50% des moustiques s'envolent déjà à partir de 2.42 secondes de contact.

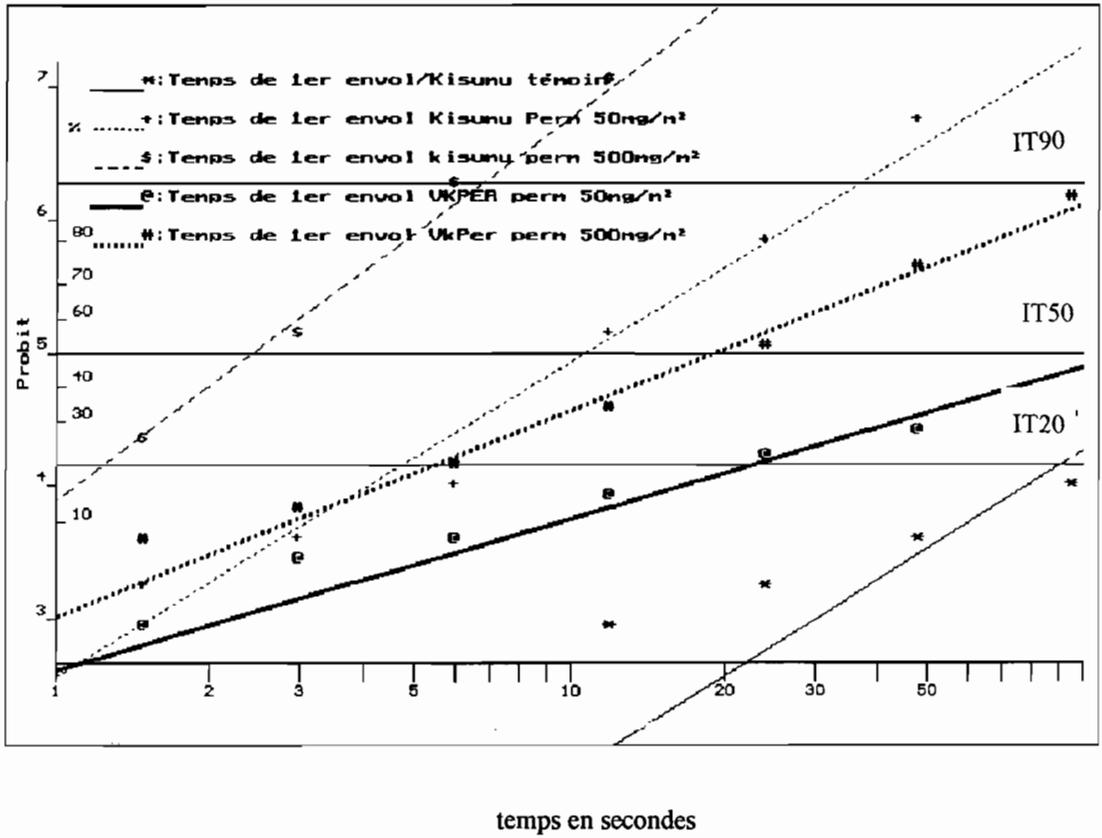


Figure 17. Effet irritant de la perméthrine sur la souche sensible (Kisumu) et sur la souche résistante (VKPer)/logprobit du temps de 1er envol

On remarque que l'irritabilité de l'insecticide augmente avec la dose, par contre cette augmentation n'est pas significative d'une dose à une dose double. Le temps de 1^{er} envol de 50% des moustiques testés sur un tissu contrôle est de 1 401 secondes. Le profil de la courbe d'irritabilité de la souche VKPer à la dose de 50 mg/m² est quelque peu semblable à celle de la courbe témoin de Kisumu. Le temps de 1^{er} envol pour 50% des moustiques de la souche V_kPer testés à la dose de 50 mg/m² est de 418.61 secondes soit 38 fois moins que la souche Kisumu. Quant à la dose de 500 mg/m², le temps de 1^{er} envol de VKPer est de 19.53 secondes soit seulement 8 fois moins que la souche Kisumu. Plus la dose augmente plus irritant devient l'insecticide même pour des souches homogènes développant une très grande résistance à la perméthrine. Cela est très intéressant d'un point de vue de lutte antivectorielle sur le terrain en ce sens que le moustique quoique développant une résistance à l'insecticide est suffisamment irrité par celui ci au point qu'il ne peut pas rester posé assez longtemps à la même place et donc ne pourrait pas piquer son hôte. Mais cela présente un risque de sélection de résistance, car si le moustique ne reste pas assez longtemps sur le tissu traité, il n'est probablement pas sûr qu'il prendra une dose suffisante d'insecticide pouvant provoquer sa mort. Quoiqu'il en soit ces résultats sont le reflet d'un test de laboratoire et ne sont peut-être pas la situation réelle qui prévaut sur le terrain.

6.4. Le test de Répulsivité

Ce test a porté sur la souche Kisumu avec comme insecticides: la perméthrine à la dose de 500 mg/m² et la deltaméthrine à 25 mg/m². Les résultats obtenus donnent une réduction de 25% des entrées par rapport à la cage témoin.

Les tableaux 16 et 17 expriment l'effet répulsif de la perméthrine et de la deltaméthrine sur *An. gambiae*. Suivant que le moustique est au contact avec l'insecticide ou non, les pourcentages de réduction des entrées enregistrées (du C1 vers le C2), fluctuent de 0 à 25% avec la perméthrine (tableau 15). Cette différence de 25% est significative avec un $\chi^2=10.08$ et un $p=0.001$. Le modèle de la cage utilisée lors des tests a subi plusieurs modifications pour en arriver au modèle avec agrandissement du compartiment 1 de sorte à offrir beaucoup plus d'espace et d'aération aux moustiques. Quant au pourcentage d'exophilie (du C2 vers le C3), les valeurs enregistrées sont instables et vont de -10% à +19%. On remarque que lorsque le moustique est au contact de l'insecticide, le taux d'exophilie est pratiquement nul ou négatif. Ceci vient du fait que la plupart des moustiques sont affaiblies par l'insecticide et ne peuvent plus s'enfuir, ils y demeurent et finissent par mourir. Cependant nous avons également remarqué que même lorsque le tulle traité était couvert par un tulle non imprégné afin d'éviter tout contact physique entre le moustique et l'insecticide, nous obtenions une mortalité assez forte dans les cages traitées.

Tableau 16: Effet répulsif de la perméthrine (500 mg/m²) sur *An. gambiae*/pourcentage de moustiques récoltés dans les différents compartiments.

lots de moustiques	C1		C2		C3	
	témoin	traité	témoin	traité	témoin	traité
pas de contact avec l'insecticide	22%	22%	78%	78%	27%	46%
Variation	-	0%	-	0%	-	+19%
contact avec l'insecticide	16%	31%	84%	69%	24%	14%
Variation	-	+15%		-15%		-10%
contact avec l'insecticide et agrandissement de C1	6%	31%	94%	69%	11%	12%
Variation	-	+25%	-	-25%	-	+1%

Avec la deltaméthrine, un seul cas de figure a été testé (tableau 17). Une réduction du pourcentage des entrées de 2.5% a été observée par rapport à la cage témoin. Quant au taux d'exophilie, on observe que 39.2% des moustiques sont passés du compartiment 2 vers le compartiment 3 dans la cage témoin contre 54.2% dans la cage traitée soit une augmentation de 15%. D'une manière générale on remarque que le taux d'exophilie est assez élevé dans les cages témoins, dû probablement à la trop grande ouverture de la fente qui relie le C2 au C3.

Tableau 17: Effet répulsif de la deltaméthrine (25 mg/m²) sur *An. gambiae*/pourcentage de moustiques récoltés dans les différents compartiments.

lots de moustiques	C1		C2		C3	
	témoin	traité	témoin	traité	témoin	traité
pas de contact avec l'insecticide	15.6%	19.1%	84.4%	80.9%	39.2%	54.2%
Variation	-	+3.5%	-	-3.5%	-	+15%
contact avec l'insecticide	13.5%	10.4%	86.5%	89.6%	20%	15.8%
Variation	-	-3.1%	-	+3.1%	-	-4.2%

6.5. La recherche du gène kdr et la répartition du complexe *An. gambiae*

Le test de diagnostic des espèces et la recherche du gène kdr a porté sur 7 sites de notre zone d'étude (tableaux 17 et 18). *An. arabiensis*, l'une des deux espèces vectrices majeures du complexe *An. gambiae* présentes au Burkina Faso a été retrouvée sur 6 des 7 sites étudiés avec une fréquence relative variable de 1.9% à 39.4%.

Les résultats donnent une fréquence relative variable des deux espèces, *An. gambiae* ss et *An. arabiensis*, en rapport avec les conditions climatiques. Au total 499 spécimens ont été testés. *An. gambiae* ss est l'espèce prédominante avec un pourcentage moyen de 82% sur l'ensemble des sites étudiés. *An. arabiensis* est présente à de faibles fréquences avec une répartition graduelle croissante depuis la région de Bobo-Dioulasso jusqu'à Ouagadougou. Plus on se trouve à l'ouest du pays, plus faible est la représentativité de cette espèce. Elle représente 2% de l'effectif testé à la Vallée du Kou (village rizicole situé à 25 km au nord de Bobo-Dioulasso) et 40% à Ouagadougou et ses environs. La répartition géographique de cette espèce semble être en rapport avec la pluviométrie et tient également compte de l'écologie du milieu. Dans la partie ouest du Burkina Faso, la pluviométrie est assez bonne avec une moyenne annuelle de 1 000 mm d'eau, voire plus, contrairement au centre et au nord du pays où la pluviométrie annuelle enregistrée est de l'ordre de 800 mm et davantage moins dans la partie nord. Cependant un cas assez singulier a été noté à Sabou. Dans cette localité, située entre Boromo et Ouagadougou, seulement 8% de l'effectif testé s'est révélé être l'espèce *An. arabiensis*, alors que de part et d'autre de cette localité, elle était présente à plus de 35%. A Bobo-Dioulasso, aucun spécimen n'a été identifié comme *An. arabiensis*. Outre la très faible taille de l'échantillon testé dans cette localité, il faut ajouter que l'identification a porté sur un échantillon très spécifique.

Tableau 17: Répartition des espèces du complexe *An. gambiae* retrouvées selon les sites

	<i>An. gambiae</i>	<i>An. arabiensis</i>	total testé
Vallée du Kou	98.1%	1.9%	105
Houndé 1	95.5%	4.5%	89
Houndé 2	92.6%	7.4%	81
Boromo	64.1%	35.9%	39
Bobo-Dioulasso*	100%	0%	11
Ouagadougou	60.6%	39.4%	71
Sabou	92%	8%	75
Kuiti	82.2	17.8%	28

*faible échantillon

Sur les 8 localités prospectées, 7 ont été étudiées pour la recherche du gène Kdr. Ce gène a une distribution disparate sur l'ensemble des sites étudiés. Au total 499 spécimens d'*An gambiae* si ont été testés. Sa présence a été révélée uniquement chez l'espèce *An. gambiae* ss. Il existe à une fréquence très faible dans la plupart des sites avec un maximum enregistré à Sabou (27%). Tous les moustiques étudiés pour la recherche de ce gène ont été testés à la perméthrine, sauf les moustiques de la localité de Kuiti. Ces derniers n'ont pas pu être récoltés à l'état larvaire. Ils ont été collectés le matin dans les habitats à l'état gorgé ou l'état gravide et ne se prêtaient pas à notre protocole de tests. Les moustiques de la localité de Boromo ont été testés à la perméthrine 1% contrairement aux autres qui l'ont été à la perméthrine 0.25%. L'analyse des données du tableau 17 donne une répartition du gène suivant les individus morts et les survivants par suite de contact avec l'insecticide. On remarque qu'à la Vallée du Kou et à Houndé, la présence du gène kdr n'a été observée que chez les survivants. A Sabou par contre, ce gène a été observé et chez les morts et chez les survivants. Il n'a pas été observé au sein de la population de moustiques de Ouagadougou.

A Bobo-Dioulasso, un très faible nombre d'échantillon a été étudié pour la recherche du gène et cette étude n'a porté que sur les survivants. Sur les 11 individus testés, 10 étaient porteurs du gène kdr sur les 2 allèles et 1 le portait sur un seul allèle. Ils appartenaient tous à l'espèce *An. gambiae* ss.

Deux prélèvements larvaires ont été effectués à des dates différentes dans la localité de Houndé. Le premier a eu lieu au mois de Mai 1997 et le second au mois d'Août 1997. Des tests de sensibilité à la perméthrine 0.25% sur les adultes de ces 2 prélèvements ont signifié l'existence de la résistance à cet insecticide à Houndé, de façon modérée au mois de Mai (86% de mortalité, tableaux 7a) et de façon forte (27% de mortalité) au mois d'Août. La recherche du gène kdr sur les 2 prélèvements marque également une différence au profit du prélèvement effectué au mois d'Août.

Tableau 18: Fréquence allélique du gène kdr selon les sites

	F(kdr) morts	F(kdr) vivants	F(kdr) total	total testé
Vallée du Kou	0%	2.5%	1.9%	105
Houndé 1	0%	7.7%	2.2%	89
Houndé 2	0%	8%	6.2%	81
Boromo*	5.1%	-	5.1%	39
Bobo-Dioulasso**	-	95%	95%	11
Ouagadougou	0%	0%	0%	71
Sabou	16.7%	34.5%	26.7%	75
Kuiti	-	-	1.8%	28

*moustiques testés à la perméthrine 1%, pas de survivants

**faible échantillon et test réalisé uniquement sur des survivants

VII. DISCUSSION

Les tests de sensibilité

La dose diagnostique de 0.25% de la perméthrine (25/75) recommandée par l'OMS nous a paru assez faible. Elle a donné une mortalité de 93% sur la souche sensible de référence. Cette dose devrait être révisée à la hausse. Aussi avons-nous considéré comme résistante, toute souche qui a enregistré une mortalité inférieure à 70%. Avec la deltaméthrine également, nous n'avons obtenu que 94% de mortalité à la dose diagnostique de 0.025% sur la souche sensible. Chandre *et al.*, (1995) ont également été confrontés au choix de la dose diagnostique de la perméthrine dans une étude menée en Côte d'Ivoire où ils ont enregistré 87% de mortalité à la perméthrine (25/75) 0.25% sur la souche sensible de référence. Par contre la dose de 0.025% de la deltaméthrine a donné systématiquement 100% de mortalité sur cette même souche sensible.

Les résultats cumulés des tests réalisés avec papiers et tissus imprégnés témoignent incontestablement de la présence de la résistance à la perméthrine de *An. gambiae* sl. au Burkina Faso. La deltaméthrine par contre, quoique n'ayant pu être testée que dans deux des localités de notre zone d'étude, enregistre une bonne sensibilité des moustiques. Les tests de 3 minutes de contact réalisés le confirment puisqu'une mortalité de l'ordre de 98% a été enregistrée à la fois à la deltaméthrine et à la lambda-cyhalothrine sur une souche de la Vallée du Kou.

Les cas de résistance à la perméthrine rencontrés s'expriment à différents niveaux d'intensité suivant la zone d'étude et suivant la saison. Il apparaît clairement que cette résistance montre un gradient décroissant du centre vers l'ouest du pays. Sabou qui a été retenu dans notre étude comme zone témoin avec une utilisation très limitée d'insecticides enregistre 60% de mortalité à la perméthrine 0.25%. Les populations récoltées dans les localités de Houndé, Bobo-Dioulasso et la Vallée du Kou sont plus résistantes avec des mortalités de l'ordre de 30%. L'étude conduite par Chandre et col (1999) à la Vallée du Kou enregistrait une mortalité de 29% à la perméthrine conformes aux résultats que nous avons obtenus. Une analyse des résultats selon la subdivision de notre zone d'étude nous permet de conclure que la résistance est plutôt confinée dans les régions agricoles où l'utilisation de pyréthrinoides est accentuée. Cependant dans le centre urbain de Bobo-Dioulasso, une très grande résistance à la perméthrine et au DDT a été enregistrée. Dans une étude conduite en

1993 à Bouaké, l'équipe de l'IPR a signalé la présence de populations d'*An. gambiae* si résistante à la perméthrine à Bouaké (Elissa *et al.*, 1993). Cette résistance a été attribuée à la pression sélective exercée par l'utilisation des bombes aérosols dans la ville de Bouaké.

La résistance à la perméthrine ainsi enregistrée proviendrait d'une résistance ultérieurement sélectionnée par l'utilisation massive du DDT en agriculture. Du fait de l'utilisation actuelle des pyréthrinoïdes pour la protection des cultures, elle refait surface.

L'implication de l'agriculture dans la sélection de la résistance des vecteurs est une donnée très mitigée qui ne fait pas l'unanimité des chercheurs. La résistance à la dieldrine de *An. gambiae* a été enregistrée dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest entre 1953 et 1963, comme le Mali et la Côte d'Ivoire, où cet insecticide n'avait jamais été utilisé dans le domaine de la santé publique (Mouchet, 1988). En 1960 quand l'utilisation du DDT en pulvérisation intradomiciliaire à Bobo-Dioulasso a été stoppée, *An. gambiae* était sensible à cet insecticide. Cependant en 1967, alors qu'était arrêtée toute utilisation du DDT en pulvérisation intradomiciliaire, la résistance est apparue suite à son utilisation pour traiter les plants de cotonnier (Hamon *et al.*, 1968). Brun et Sales (1975) dans une étude menée à Soumouso au Burkina Faso, attribuent la résistance d'*An. funestus* à la pression de sélection exercée par la culture de coton. En effet de 1967 à 1975, ils ont pu établir une corrélation entre les quantités d'insecticides utilisés et le niveau de la résistance à la dieldrine rencontrée. Mouchet & Brengues (1990) affirment dans une revue de littérature intitulée "les interfaces agriculture-santé" que les traitements agricoles ont constitué un très sérieux obstacle à la lutte contre les vecteurs et les anophèles, en particulier, en contribuant à la sélection de souches résistantes.

Dans une publication apparue en 1988, Jo Lines (1988) se demande bien si l'utilisation des insecticides dans le domaine de l'agriculture peut sélectionner la résistance chez les moustiques? Il cite un bel exemple de sélection de la résistance due à l'agriculture au Salvador. Les auteurs de cette étude avaient remarqué qu'en 1972, les moustiques avaient disparu de la zone cotonnière suite à l'utilisation des organophosphorés pour traiter le coton, alors qu'ils maintenaient leurs densités normales dans la zone non cotonnière. Cinq années après en 1977, puis en 1978, les densités de la faune anophélienne étaient identiques dans les 2 zones (cotonnière et non cotonnière), même pendant la saison de traitement des

cotonniers. La résistance ainsi apparue était à mettre au compte de l'utilisation de ces insecticides en agriculture. Cette hypothèse était soutenue par 4 arguments solides:

1-Le niveau de la résistance était plus élevé dans la zone cotonnière que dans la zone non cotonnière,

2-Le niveau de la résistance était plus élevé pendant la période de traitement des cotonniers et déclinait après cette période,

3-L'utilisation de ces insecticides en agriculture a dramatiquement réduit les populations de moustiques au début et non plus tard quand la résistance avait atteint un niveau élevé,

4-la résistance était rencontrée aussi bien chez les adultes que chez les larves.

Par contre au Soudan, *An. arabiensis* a développé une résistance au malathion en 1978, après seulement une année d'utilisation en pulvérisation intradomiciliaire. Cette résistance ne pouvait être mise au compte de l'agriculture pour 2 raisons:

1-La résistance n'était pas rencontrée chez les larves, excluant toute possibilité de sélection par la contamination des gîtes larvaires avec les insecticides agricoles,

2-La résistance rencontrée chez les adultes était conférée uniquement au malathion, produit qui n'était pas utilisé en agriculture.

Un cas assez particulier a été rencontré à Boromo. Cette localité fait partie de la zone cotonnière. Cependant les résultats des tests qui y ont été réalisés font état d'une bonne sensibilité à la perméthrine et au DDT. Cela proviendrait probablement d'une différence au niveau des populations de moustiques qui colonisent cette localité. Guillet et coll. (communication personnelle) ont rencontré le même cas de figure dans une étude réalisée en Côte d'Ivoire où dans 2 localités situées à peine à une trentaine de kilomètres l'une de l'autre le statut de sensibilité aux insecticides était complètement différent.

An. funestus, l'un des vecteurs du paludisme, qui en général prend le relai de la transmission quand le pic de transmission de *An. gambiae* sl. est en baisse, a aussi été testé dans cette localité. Cette espèce enregistre une très bonne sensibilité à la perméthrine. Cela pourrait s'expliquer pour 2 raisons:

1-*An. funestus* est une espèce qui apparaît généralement en fin de saison de pluies, période à laquelle les traitements insecticides dans le domaine agricole sont terminés,

2-Boromo étant une localité semi-urbaine où la densité de la faune culicidienne n'est pas très élevée, l'utilisation des bombes aérosols est très modérée.

A Houndé, 2 cas de figures ont été rencontrés. Un test réalisé au mois de Mai a montré une bonne sensibilité d'*An. gambiae* sl. à la perméthrine et une résistance assez modérée au DDT. Trois mois plus tard, au mois d'Août, un autre test a été réalisé et *An. gambiae* sl. affichait une résistance tant à la perméthrine qu'au DDT. Cette situation pourrait s'expliquer par le fait que le mois de Mai correspond dans notre zone d'étude à la fin de la saison sèche. On enregistre les premières pluies et les travaux champêtres n'ont pas encore pratiquement commencé. Il n'y a donc aucun traitement insecticide. Par contre le mois d'Août correspond à la saison des cultures avec des traitements insecticides. Les pluies assez fréquentes à cette période de l'année délavent assez souvent les cotonniers de leurs insecticides et l'eau de ruissellement qui stagne constitue des gîtes potentiels de moustiques. Cette eau du fait de l'insecticide qu'elle contient a pu tuer les larves sensibles pour ne laisser place qu'aux larves qui développent une certaine résistance. Au Salvador, une étude a démontré que le niveau de résistance de *An. albimanus* atteignait son pic pendant le traitement des cotonniers et déclinait après cette période (Lines 1988). Mouchet et Brengues (1990), affirment que la sélection des souches résistantes résulterait de l'entraînement par les pluies de l'insecticide appliqué aux cultures, en particulier au coton, dans les dépressions du sol qui sont des gîtes de moustiques.

La perméthrine est un insecticide efficace qui produit un effet de choc sur les moustiques. Cet effet de choc est connu sous le nom d'effet "knock down" (kd). L'analyse de la relation effet kd-log de temps (kdT), a donné dans la plupart des tests réalisés une droite. Chez toutes les souches répertoriées résistantes à la perméthrine, une augmentation visible de la perte de l'effet kd de 2-4 fois a été obtenue. Assez intéressante est l'augmentation du kdT des souches qui ont été enregistrées comme des souches sensibles. Ainsi une augmentation du kdT de la population d'*An. gambiae* sl récoltée à Houndé a été

obtenue en Mai alors que la mortalité était de 86%. Cette même augmentation du kdT a été obtenue au DDT, mais de façon moins nette que la perméthrine. La deltaméthrine par contre a seulement donné une tendance à l'augmentation du kdT, mais cette augmentation n'était pas significative. L'augmentation du kdT est plus nette avec la perméthrine qu'avec la deltaméthrine. Une baisse de l'effet kd est un bon indicateur pour une détection précoce de la résistance sur le terrain.

Les mécanismes responsables de la résistance chez les moustiques sont multiples et deux d'entre eux y sont souvent impliqués. Il s'agit de la détoxification enzymatique qui dégrade l'insecticide absorbé en des molécules non ou peu actives et la modification du site d'action de la molécule d'insecticide.

Dans le cas des pyréthrinoides, la résistance rencontrée est de type kdr (Knock down resistance). Ce gène a été rencontré sur la plupart de nos sites d'étude où la résistance a été relevée. Il est présent à une fréquence relativement faible à des pourcentages de 2 à 6%. Paradoxalement, Sabou qui a été retenu comme zone témoin enregistre le plus fort pourcentage du gène kdr, soit 26%. Ces résultats suscitent 3 hypothèses:

- 1-il n'existerait pas une bonne corrélation entre le gène kdr et la résistance,
- 2-les tests de sensibilité aux papiers imprégnés ont dû souffrir d'un facteur qui a occasionné une grande mortalité inexplicée à Sabou,
- 3-il existerait un autre mécanisme de résistance non élucidé.

La première hypothèse est à écarter, parce que beaucoup d'études ont mis en évidence la présence de ce gène chez plusieurs espèces d'insectes résistants (Pauron *et al.*, 1989, Dong, 1997, Martinez-Torres *et al.*, 1998). La mutation associée à cette résistance a été retrouvée à la même place chez ces insectes.

La deuxième hypothèse est un élément sur lequel on peut spéculer. En effet les tests n'ayant pas tous été réalisés à la même période, ni au même endroit, il était difficile de respecter les mêmes conditions de température, d'humidité et d'éclairage. Les tests réalisés à Sabou ont été effectués à des conditions de température relativement élevée, soit 33°C. Il est reconnu que la perméthrine est un insecticide qui a une activité négativement corrélée à la température. Cependant lorsque les moustiques sont élevés dans des conditions de

température relativement haute, on enregistre une forte mortalité même en dehors de tout effet insecticide. La haute température enregistrée pourrait être un facteur aggravant dans la mortalité obtenue à Sabou, indépendamment de tout effet insecticide.

La troisième hypothèse peut également être justifiée. On est étonné qu'en dépit d'une très grande résistance enregistrée à la vallée du Kou (29% de mortalité), le gène *kdr* y soit le plus faiblement représenté (1.9%). Ceci permet de penser qu'il existerait un autre mécanisme de résistance, probablement un mécanisme de détoxification. D'ailleurs Guillet et coll. (communication personnelle) ont enregistré en Côte d'Ivoire des cas de résistance qui ne sauraient s'expliquer par le gène *kdr*.

Par ailleurs sur un total de 488 spécimens testés *An. arabiensis* représentait 13% de l'effectif total soit 64 spécimens. La présence du gène *kdr* n'a été mise en évidence chez aucun spécimen de cette espèce. Par contre au nombre des spécimens survivant au contact de l'insecticide, on dénombre 26 *An. arabiensis* soit 40% de l'effectif de cette espèce. Cela pourrait s'expliquer par la présence probable d'un autre mécanisme de résistance développé par cette espèce.

Des études ont démontré que les pyréthrinoïdes agissent sur les fibres nerveuses de l'insecte et perturbent le flux du canal sodium (Pauron *et al.*, 1989, Malcom, 1990, Dong, 1997, Martinez-Torres *et al.*, 1998). La première démonstration révélant que les pyréthrinoïdes modifient les caractéristiques pharmacologiques et électrophysiologiques des protéines des canaux sodium voltage-dépendant (CNaVdp) en se liant à elles, a été faite sur des cellules de mammifères (Pauron *et al.*, 1989). Il est maintenant établi que ces insecticides retardent la fermeture du canal sodium. La liaison entre l'insecticide et son site d'action présente des caractéristiques très différentes selon que les protéines proviennent d'insectes résistants ou sensibles. Ce mode d'action connu pour développer la résistance aux pyréthrinoïdes est aussi rencontré dans les cas de résistance au DDT (Martinez-Torres *et al.*, 1998). Ce mécanisme de résistance a été rencontré pour la première fois chez la mouche domestique, *Musca domestica*, résistante au DDT (Milani, 1954). Il a été reporté dans plusieurs études comme la conséquence d'une mutation unique de la leucine en phénylalanine sur la séquence du gène codant pour le canal sodium chez *M. domestica* (Williamson *et al.*, 1996) et chez la blatte germanique, *Blattella germanica* (Miyazaki *et al.*,

1996). Par ailleurs, une mutation différente, la leucine en histidine à la même position a été rencontrée chez des populations de ravageurs de tabac, *Heliothis virescens* résistantes aux pyréthrinoïdes (Park & Taylor, 1997). Martinez-Torres et coll. (1997) pensent que la leucine joue probablement un rôle crucial dans la liaison pyréthrinoïde-canal sodium et sa substitution par un autre amino acide conduisant à la résistance de type kdr doit être hautement spécifique au point de garder intacte la fonctionnalité du canal sodium. Il s'agirait pour plusieurs auteurs d'une altération de l'affinité de la molécule d'insecticide pour son site d'action situé sur le canal sodium (Pauron *et al.*, 1989, Dong, 1997, Martinez-Torres *et al.*, 1998).

En plus de la résistance de type kdr, les vecteurs développent un autre mécanisme de résistance au DDT (Metcalf, 1989, Malcom, 1990, Hemingway, 1992b). Il s'agit d'une détoxification accrue du DDT en DDE non actif par une enzyme connue sous le nom de DDT-déhydrochlorinase ou DDTase. Ce mécanisme de résistance a été rencontré chez la *M. domestica*, *Aedes aegypti*, *Culex fatigans*, *An. saccharovi*, *An. culicifascies*, *Pediculus humanus humanus*, *Triaoma infestans*, et *Heliothis virescens* (Metcalf, 1989).

L'Effet excito-répulsif de la perméthrine et de la deltaméthrine

Des conclusions de nos travaux, il ressort que la perméthrine a un effet répulsif plus net sur *An. gambiae* par rapport à la deltaméthrine. Dans les cas de figure où les tests ont pu être réalisés en parallèle, le moustique a une tendance plus manifeste à éviter la perméthrine. Ainsi dans le cas où le contact physique n'est pas permis entre le moustique et l'insecticide, il rentre autant de moustiques dans le compartiment traité que dans le compartiment témoin. Mais une fois dans le compartiment traité, les moustiques ont tendance à s'enfuir. Ainsi 19% des moustiques fuient le compartiment traité à la perméthrine par rapport au témoin contre 15% à la deltaméthrine. Si le contact physique entre le moustique et l'insecticide est permis, seulement 69% des moustiques entrent dans le compartiment traité à la perméthrine contre 90% dans le compartiment traité à la deltaméthrine. Par ailleurs, du fait du contact entre l'insecticide et le moustique, le taux d'exophilie est pratiquement nul car la plupart des moustiques meurent ou s'affaiblissent avant d'avoir retrouvé la porte de sortie. Les résultats ainsi obtenus indiquent une simple

tendance des moustiques à éviter l'insecticide, car la différence d'avec le lot témoin n'est pas significative.

Les difficultés majeures du test d'excito-répusivité résident au fait qu'il est très difficile d'introduire les moustiques dans la cage d'étude, de retirer les spécimens vivants à la fin du test et de trouver une dose d'application adéquate de l'insecticide (Roberts *et al.*, 1997). Des méthodes variées des tests d'excito-répusivité existent et ont été décrites par plusieurs auteurs (Coluzzi, 1963, Busvine, 1964, Elliot, 1972, Rachou *et al.*, 1973, Roberts *et al.*, 1984, Rozendaal *et al.*, 1989 et Evans, 1993). L'un des handicaps de ce genre de test est qu'il n'y a de nos jours aucun test qui fait l'unanimité des chercheurs (Chareonviriyaphap *et al.*, 1997). Les tests recommandés par l'OMS pour étudier les réponses comportementales des vecteurs du paludisme aux insecticides ne font pas la différence entre la stimulation induite par contact avec l'insecticide versus non contact. Les concepts de ces tests postulent que le moustique ne réagit à l'insecticide qu'après un contact physique avec celui-ci, ce qui n'est pas réaliste (Roberts *et al.*, 1997).

Dans la plupart des tests d'excito-répusivité, 25 femelles de moustiques à jeun sont introduites à la fois dans la cage expérimentale (Hossian & Curtis, 1989). Mais il faut noter qu'en général ces cages ne sont pas de très grande taille. Dans nos tests 100 femelles de moustiques à jeun étaient introduites dans la cage expérimentale. Au regard des résultats qui nous paraissaient assez faibles, nous avons pensé que ce nombre était trop élevé. Les moustiques s'excitaient beaucoup et à force de s'envoler, ils finissaient par s'introduire dans le compartiment traité sans être réellement attirés par l'odeur du cobaye. Pour remédier à cela, nous avons réaménagé la cage en agrandissant le compartiment I (C 1) afin d'offrir plus d'espace et plus d'aération aux moustiques. Le test a été alors refait avec de la perméthrine en introduisant seulement 50 femelles en même temps. Les résultats obtenus enregistrent une nette amélioration avec une réduction de 25% des entrées par rapport à la cage témoin. Ces résultats nous paraissent faibles par rapport aux résultats de certaines études menées sur le terrain où plus de 70% de réduction dans les entrées avaient été obtenus avec le DDT. Le DDT et la perméthrine ayant le même mode d'action, cette différence importante pourrait s'expliquer par trois raisons:

-les milieux où se déroule l'étude ne sont pas identiques. En effet sur le terrain, le moustique se trouve dans un environnement naturel et sa réaction par rapport à l'insecticide n'est influencée par aucun facteur externe. En plus l'espace qui lui est offert dans ce cas est tellement vaste que le moustique a le choix entre "entrer dans la maison traitée" et "ne pas entrer".

-Notre cage expérimentale est assez contigue au regard de la dose d'insecticide utilisée (500 mg/m²). Elle mérite d'être réaménagée afin d'offrir plus d'opportunité au moustique

-La souche de moustique utilisée.

Chareonviriyaphap *et col.*, (1997) ont obtenus des résultats très diversifiés à la perméthrine suivant les souches de moustiques qu'ils ont utilisées. Selon eux, les souches de moustiques qui seraient restées au moins une vingtaine d'années au laboratoire répondraient moins à l'effet excito-répulsif des insecticides. Ces moustiques par suite d'un trop long séjour en laboratoire, auraient perdu cette attitude d'éviter tout contact avec l'insecticide. Selon Smyth & Roys (1955) et Soliman & Cutkomp (1963) le DDT exerce un effet spécifique sur les chémorécepteurs des antennes et sur les poils sensitifs des tarsi. Une fonction combinée de ces deux éléments sensitifs serait à la base du comportement d'évitement à distance et par contact de l'insecticide observé sur le terrain.

Nos tests d'irritabilité enregistrent un effet irritant très satisfaisant tant sur la souche sensible que sur la souche résistante. En effet à la dose d'application sur le terrain, 50% des moustiques de la souche sensible s'envolent après 3 secondes de contact avec l'insecticide contre 20 secondes pour la souche résistante. Cette attitude à éviter l'insecticide et la résistance physiologique seraient la résultante de la pression de sélection exercée par les insecticides d'usage courant (Lockwoode *et al.*, 1984). Cependant des réponses comportementales identiques obtenues à la fois sur une souche sensible et sur une souche résistante de *An. albimanus* font penser qu'il n'y a aucune corrélation entre les 2 fonctions (Chareonviriyaphap *et col.*, 1997). Les mêmes auteurs affirment qu'un insecticide qui aurait un bon effet excito-répulsif sur les moustiques réduirait de façon importante la transmission

du paludisme à l'intérieur des maisons. Cependant certains auteurs disent que les propriétés irritantes de la perméthrine et de la deltaméthrine ont un impact négatif sur la transmission du paludisme à cause de la transmission qui pourrait être transférée de l'intérieur des maisons vers l'extérieur (Riskikesh *et al.*, 1978).

VIII. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La résistance aux insecticides est un phénomène qui est connu depuis les années 50. Elle a souvent été évoquée comme la cause majeure de succès limité de certains programmes de lutte antivectorielle. L'échec de la campagne d'éradication du paludisme dans les années 50/60 est attribué, pour une grande partie, à un phénomène généralisé de la résistance des vecteurs vis-à-vis du DDT et de ses analogues.

La résistance aux insecticides est un phénomène évolutif. Les facteurs socio-environnementaux et la biologie de l'insecte qui conditionnent l'évolution de cette résistance sont souvent mal appréhendés ou de façon parcellaire (Chandre 1998). Un accent particulier devra être mis sur la compréhension de l'ensemble des facteurs qui conditionnent une résistance dans le but de pouvoir mieux gérer l'utilisation des insecticides que nous avons à portée. Les exemples de gestion réussie de la résistance, quoique rares, existent quand même. Le Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP) a montré que les sérieuses difficultés opérationnelles liées au développement d'une forte résistance pouvaient être maîtrisées de façon raisonnée (Guillet, 1995).

L'évaluation effective de la résistance d'*An. gambiae* sl aux pyréthrinoïdes, sur le terrain, est récente. Dans notre étude, nous nous sommes attachés, dans un premier temps, à vérifier l'existence de cette résistance et à délimiter les zones géographiques, puis dans un deuxième temps, à mettre l'accent sur la compréhension des mécanismes impliqués dans cette résistance.

L'essence de toute femelle est de procréer. Dans un environnement où les facteurs essentiels propres à l'évolution d'une espèce sont perturbés, la nature tend à établir toujours l'équilibre au coût d'un certain sacrifice et les spécimens qui survivent sont ceux qui ont acquis des valeurs sélectives adaptatives qui leur permettraient de contribuer positivement à la survie de l'espèce. *An. gambiae* sl., comme beaucoup d'espèces ou de complexes d'espèces à large répartition, semble avoir un patrimoine héréditaire très riche, lui permettant de s'adapter plus ou moins rapidement à des conditions très variées et notamment de constituer des populations résistantes aux insecticides. La résistance aux pyréthrinoïdes est de loin la moins bien connue. Il est possible que différents mécanismes biochimiques soient associés au mécanisme de type kdr. Bien que l'utilisation des bombes

aérosols à domiciles et l'utilisation extensive des mêmes insecticides en agriculture soient considérés comme ayant favorisé cette résistance rencontrée, il est aussi possible que le DDT ait sélectionné dans un passé lointain ce gène kdr que nous rencontrons aujourd'hui.

La préoccupation fondamentale à l'heure actuelle est de savoir si la résistance aux pyréthrinoïdes rencontrée dans un certain nombre d'études, peut avoir un impact négatif sur l'utilisation des ces insecticides en imprégnation de moustiquaires et de rideaux? Une réponse sans équivoque à une telle question nécessite de mener une étude de grande envergure sur l'impact des MII sur le paludisme dans des zones où la résistance a été décelée. Sur la base d'anciennes expériences, on a constaté que les populations anophéliennes résistantes n'occupent généralement qu'une partie de l'aire de répartition des espèces intéressées. Les zones de résistance sont même parfois très localisées, alors que les insecticides ont été très largement employés dans le monde entier. La résistance de *An. gambiae* sl. aux pyréthrinoïdes semble être seulement signalée dans quelques régions d'Afrique de l'Ouest. Les niveaux de résistance qui y sont rencontrés ne sont pas en général très alarmant; cependant une grande prudence quant au choix et à la stratégie d'utilisation de ces insecticides serait très utile afin d'éviter que cette résistance ne se repande. Les propriétés excito-répulsives de ces insecticides et leur utilisation presque exclusive contre les adultes et non les larves, dans le domaine de la santé publique, nous permet de nous attendre à la survie des individus les plus résistants et aussi des plus irritables. La majorité de ces derniers, sinon la totalité, sera sensible et leur survie empêchera ou retardera le développement d'une population résistante, selon l'hypothèse de Zulueta (Hamon & Garrett-Johns, 1963). L'irritabilité moyenne de la population s'accroîtra, mais pas forcément sa tolérance, quoique cela dépende de la fréquence de chacun des gènes dans la population initiale et de l'avantage que les moustiques porteurs tirent de ces gènes d'irritabilité et de résistance en présence du traitement d'insecticide.

Même si la résistance aux pyréthrinoïdes est un grave problème pour le contrôle des vecteurs, il serait dangereux d'extrapoler à partir de ces résultats et de devenir trop alarmiste avant même d'avoir délimité l'extension géographique de cette résistance et son

impact sur l'efficacité des MII. Dans le cas de cette étude, la résistance rencontrée sur le terrain semble avoir un gradient décroissant de l'Ouest du pays vers le Centre. Il est probable, bien que cela mérite d'être vérifié, que les populations d'*An. gambiae* sl, plus au Nord et à l'Est du pays, soient parfaitement sensibles à la perméthrine. L'utilisation de cet insecticide dans ces régions, sous peine d'être vérifié, serait très possible. La résistance rencontrée à l'Ouest du pays ne devrait pas à priori constituer un obstacle à l'utilisation de la perméthrine dans cette région. Les propriétés excitorépusives des pyréthrinoïdes, quoique difficiles à vérifier en laboratoire, leur confèrent une certaine efficacité sur les anophèles, même résistants. Les MII conservent de ce fait une bonne efficacité sur le terrain même vis-à-vis des populations d'*An. gambiae* ss constituées à plus de 90% d'individus homozygotes pour le gène kdr (Chandre, 1998).

L'étude ainsi réalisée ouvre des perspectives de recherche très intéressantes pouvant s'articuler autour de 3 points majeurs:

-Quelle peut être l'implication opérationnelle de cette résistance dans un programme de lutte antivectorielle, dans une zone où la résistance a été détectée?

-Quels sont les mécanismes réels impliqués dans la résistance d'*An. gambiae* sl en complément du gène kdr?

-Comment vérifier en laboratoire, l'effet excitorépusif de la perméthrine?

A l'heure où le taux de mortalité occasionné par le paludisme va sans cesse croissant, la mise au point d'un vaccin est un espoir pour toute la communauté. Toutefois, les MII sont censés rester un outil remarquable dans la lutte contre le paludisme, parce que à leur impact sur les conséquences les plus douloureuses de ce fléau, ils associent ce qu'aucun vaccin ne peut faire, un impact de grande envergure sur la nuisance provoquée par les vecteurs aux habitants des milieux ruraux africains.

La grande difficulté dans les pays en voie de développement en matière de lutte antivectorielle est cette dualité constante qui oppose l'économie à la santé. La production agricole est la première priorité du développement pour faire face à l'angoissant problème

de l'alimentation d'une population en croissance exponentielle. Elle est en amont de toute autre préoccupation et constitue un des défis du troisième millénaire. Cette politique d'auto-suffisance alimentaire adoptée par la plupart des états conduit à la mise en place de vastes aménagements agricoles et d'une utilisation souvent anarchique des insecticides au mépris des lois de la nature. S'il est vrai que ventre vide n'a point d'oreilles il est illusoire, par contre de croire que ventre plein, même malade, a des oreilles pour écouter; car aussi vieux qu'est le monde, un pays où les enfants mangent à leur faim et meurent dans leurs couches, la rate enflée de malaria, est un pays sans avenir.

BIBLIOGRAPHIE

- Alonso, P.L., Lindsay, S. W., Armstrong Schellenberg, J. R. M., Conteh, M., Hill, A. G., David, P. H., Fegan, G., de Francisco, A., Hall, A. J., Shenton, F. C., Cham, K. & Greenwood, B. M., (1991). The effect of insecticide-treated bednets on mortality of Gambian children. *Lancet*, **337**, 1499-1502.
- Alonso, P.L., Lindsay, S. W., Armstrong Schellenberg, J. R. M., Keita, K., Gomez, P., Shenton, F. C., Hill, A. G., David, P. H., Fegan, G., Cham, K. & Greenwood, B. M., (1993). A malariacontrol trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of the Gambia, west Africa. 6. The impact of the interventions on mortality and morbidity from malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **87**, supplement 2, 37-44
- Anonyme (1997). Rapport technique sur la campagne agricole cotonnière 1996/97. 33p.
- Asman, S.M., Zaloni, F.B. & Meyer, R.P. (1980). A field release of irradiated male *Culex tarsalis*. In: C.D. Grant Calif. Mosquit. Vector Cont. Assoc. Visalia CA. *California. Proc. Calif. Mosquit. Vector Contr. Assoc.* **48**:64.
- Asman, S.M., McDonald, P.T. & Prout, T. (1981). Field studies of genetic control systems for mosquitoes. *Ann. Rev. Entomol.* **26**:289-318
- Binka, F.N., Kubaje, A., Adjuik, M., Williams, L. A., Lengler, C., Maude, G. H., Arma, G. E., Kajihra, B., Adiamo, J. H. & Smith, P.G. (1996). Impact of permethrin treated bednets on child mortality in Kassena-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial. *Tropical Medicine and International Health*, **1**, 147-154.
- Brown, A. W. A. & Pal, R. (1971). Insecticide resistance in Arthropods. WHO, Geneva Switzerland.
- Brun, L. O. & Sales, S. (1975). Evolution de la résistance à la dieldrine d'une population sauvage d'*Anopheles funestus* Giles en l'absence de traitements selectifs délibérés. Rap. ronéot. OCCGE-ORSTOM, *Lab. Entomologie, Bobo-Dioulasso, N° 15/Ent/75 du 25.11.1975*.
- Bryan, J.H., Petrarca, V., DI Deco, M.A. & Coluzzi, M. (1987). Adult behaviour of members of the *Anopheles gambiae* complex in the Gambia with references to *An. melas* and its chromosomal variants. *Parasitologia*, **29**:221-249
- Busvine, J. R., (1964). The significance of DDT irritability tests on mosquitoes. Bull. WHO **31**:645-656
- Caretto, S., Giardina, M. C., Nicolodi, C. & Mariotti, D. (1994). Chlorsulfuron resistance in *Daucus carota* cell lines and plants: involvement of gene amplification. *Theor. Appl. Genet.* **88**:520-524
- Chandre, F. (1998). Résistance d'*Anopheles gambiae* giles et de *Culex pipiens quinquefasciatus* Say aux insecticides en Afrique de l'Ouest et implications opérationnelles. Thèse, Université de Paris XII.

- Chapman, R. F. (1969).** The insects, structure and function. The English Universities Press Ltd. London, UK:819p.
- Chareonviriyaphap, T., Roberts, D. R., André, R. G., Harlan, H. J., Manguin, S. & Bangs, M. J. (1997).** Pesticide avoidance behavior in *Anopheles albimanus*, a malaria vector in the Americas. *J. Am. Mosq. control Assoc.* 13(2):171-183.
- Chinery, W. A. (1984).** Effects of ecological changes on the malaria vectors *Anopheles funestus* and the *An. gambiae* complex of mosquitoes in Accra, Ghana. *J. trop. Med. Hyg.*, 87:75-81
- Chritie, M. (1959).** A critical review of the role of immature stages of anopheline mosquitoes in the regulation of adult numbers with particular reference to *Anopheles gambiae*. *Trop.Dis. Bull.*, 56:385-399
- Coluzzi, M., 1963.** Study on irritability of DDT to anopheline mosquitoes. *WHO/VBC/* 33:1-22
- Coluzzi, M., Petrarca, V. & Di Deco, M.A. (1985).** Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in *Anopheles gambiae*. *Boll. Zool.*, 52:45-63.
- Coluzzi, M. (1992).** Malaria vector analysis and control. *Parasitology Today*, 8, 113-118
- Craig, G.B. Jr. (1963).** Prospects for vector control through genetic manipulation of populations. *Bull. WHO* 29:89-97
- Craig, G.B. (1967).** Mosquitoes: female monogamy induced by male accessory gland substance. *Science* 156:1499-1501
- Cuisance, D., Politzar, H., Clair, H. M., Sellin, E. & Taze, Y.(1978).** Impact des lâchers des mâles stériles sur les niveaux de deux populations de *Glossina palpalis* en Haute Volta (source de la Volta Noire). *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* 31:315-328.
- Curtis, C.F. (1968).** A possible genetic method for the control of insect pests with special reference to tsetse flies *Glossina* spp. *Bull. Entom. Res.* 57:509-523
- Curtis, C.F. (1985).** Genetic control of insect pests: growth industry or lead balloon? *Biological J. Linnean Soc.* 26:359-374.
- Dajoz, R. (1969).** Les Insecticides. ed. *Presses Universitaires de France* 128pp
- D'Alessandro, U, Olaleye, B. O., McGuire, W., Languerock, P., Bennett, S., Aikins, M. K., Thomson, M. C., Cham, M. K., Cham, B. A. & Greenwood, B. M. (1995).** Mortality and morbidity from malaria in Gambian children after introduction of a treated bednet programme. *The Lancet*, 345, 479-483.

- Dame, D. A., Lowe, R. E. & Williamsom, D. L. (1981).** Assessment of release sterile *Anopheles albimanus* and *Glossina morsitans morsitans*. In: R. Pal, J. B. Kitzmiller, T. Kanda, editors, *Cytogenetics and genetics of Vectors*; Proc. XVI Int. Congr. Entomol. Kyoto, 1980. Amsterdam: Elsevier. pp. 231-241.
- 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.
- Devonshire, A. L. & Field, L. M. (1991).** Gene amplification and insecticide resistance. *Ann. Rev. Entomol.* 36:1-23.
- Diabaté, A. (1995).** Impact des rideaux imprégnés d'insecticide sur les paramètres entomologiques de la transmission du paludisme. Mémoire de DEA. Université de Ouagadougou.
- Dong, K. (1997).** A single amino acid change in the para sodium channel protein is associated with knockdown-resistance (Kdr) to pyrethroids insecticides in German cockroach. *Insect Biochem. molec. Biol.* 27(2):93-100.
- Elissa, N., Mouchet, J., Riviere, F., Meunier J. Y. & Yao, K. (1993).** Resistance of *Anopheles gambiae* ss. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann. Soc. belge Méd. trop.* 73, 291-294.
- Elliott, R., (1972).** The influence of vector behaviour on malaria transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21:755-763
- Evans, R. G., (1993).** Laboratory evaluation of irritancy of bendiocarb, lambda-cyhalothrin and DDT to *Anopheles gambiae*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 9:285-293
- Georghiou, G. P. (1981).** The Occurance of Resistance to Pesticides in Arthropods. FAO. plant Production and Protection Series, Rome Italy.
- Gentilini, M et Nozais JP, (1991).** Historique du Paludisme. *ed. Ellipses* 240pp
- Grant, D. F. & Matsumura F. (1988).** GST1 and 2 in suceptible and insecticide resistant *Aedes aegypti*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 33:132-143.
- Graves, P. M., Brabin, B. J., Charlwood, J. D., Burkot, T. R., Cattani, J. A., Ginny, M., Paino, J., Gibson, F. D. & Alpers, M. P. (1987).** Reduction in incidence and prevalence of *Plasmodium falciparum* in under-5-year-old by permethrin impregnation of mosquito nets. *Bulletin of the World Health Organisation*, 65:869-877.
- Guillet, P., Escaffre, H., Ouedraogo, M. & Quillevere D. (1980).** Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) en Côte d'Ivoire (zone de programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du bassin de la Volta). *Cah. ORSTOM Sér. Entomol. Med. Parasitol.*, 18:291-299
- Guillet, P. (1995).** La résistance des vecteurs aux insecticides. Doc. tech. LIN.

- Gwadz, R. & Collins, F.H. (1996).** Anopheline mosquitoes and the agents they transmit dans the Biology of Disease Vectors. éd. *University Press of Colorado*. 73-84pp
- Hama, H. (1983).** Resistance to insecticides due to reduced sensitivity of AChE. In: G.P. Georgiou and T. Saito, editor, *Pest resistance to pesticide*. New York: Plenum pp.231-299
- Hamon, J., Adam, J. P. & Grjebine, A. (1956).** Observation sur la répartition et le comportement des anophèles de l'Afrique Equatoriale française, du Cameroun et de l'Afrique Occidentale. *Bull. Org. Mond. santé*, 15:549-591.
- Hamon, J. & Garrett-Jones, C. (1963).** La résistance aux insecticides chez les vecteurs majeurs du paludisme et son importance opérationnelle. *Bull. Org. Mond. Santé*, 28:1-24.
- Hamon, J., Sales, S. & Coz, J. (1968).** Données récentes sur la résistance aux insecticides chez les membres du complexe *Anopheles gambiae* et chez *An. funestus*. *Rap. final VIII^o conférence techn. OCCGE*.
- Hardy, G.A. 1986.** Constraints to the commercialization of bacterial insecticides. IVth. Internat. Coll. Invertebr. Pathol., Veldhoven, 18-22 August 1986 in: "*Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology*" (Ramson *et al.*, Eds), p 646
- Hemingway, J. & Georghiou, J. P. (1983).** Study on AChE of *Anopheles albimanus* resistant and susceptible to organophosphate and carbamate insecticides. *Pest. Biochem. Physiol.* 19:167-171.
- Hemingway, J., Jayawardarna, K. G. J. & Herath, P. R. J. (1986).** Pesticide resistance mechanisms produced by field selection pressures on *Anopheles nigerrimus* and *Culex culicifacies* in Sri Lanka. *Bull. World Health Org.* 64:753-758.
- Hemingway, J., Small, G. J., Monro, A., Sawyer, B.V. & Kasap, H. (1992a).** Insecticide resistance gene frequencies in *Anopheles sacharovi* population of Cukurova plain, Adan province, Turkey. *Med. Vet. Entomol.* 6:342-348.
- Hemingway, J.(1992b).** Genetic of insecticide resistance in mosquito vectors of disease. *Parasitology Today*, 8(9):296-298.
- Hemingway, J., Lindsay, S. W., Small, G. J., Jawara, M. & Collins F. H. (1995).** Insecticide susceptibility status in individual species of *Anopheles gambiae* complex (Diptera: *Culicidae*) in an area of the Gambia where pyrethroid impregnated bednets are used extensively for malaria control. *Bulletin of Entomological Research*, 85, 229-234.
- Hossian, M.I. & Curtis, C. F. (1989).** Laboratory evaluation of deet and permethrin impregnated wide-mesh netting against mosquitoes. *Entomol. exp. appl.* 52:93-102
- Knipling E.F., Laven, H., Craig, G.B. Jr., Pal, R., Kitzmiller, J.B., Smith, C.N. & Brown A.W.A. (1968).** Genetic control of insects of public health importance. *Bull. WHO* 38:421-438.

- Krishnamurthy, B.S., Ray, S.N. & Joshi, G.C. (1962).** A note on preliminary field study of the use of irradiated males for reduction of *C. fatigans* wild populations. *Ind: J Malar.* 16:365-373.
- Kurtak, D., Ouedraogo, M., Ocran, M., Barro, T. & Guillet, P. (1982).** Preliminary note on the appearance in Ivory Coast of resistance to chlophoxim in *Simulium soubrense/sanctipauli* larvae already resistant to temephos (Abate). Doc. Mim. WHO/VBC/82.850
- LaChance, L.E. & Knipling, E.F. (1962).** Control of insect populations through genetic manipulations. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 55:515-520.
- LaChance, L.E. (1967).** The induction of dominant lethal mutations of insects by ionizing radiations and chemicals as related to the sterile male technique of insect control. In: J. Wright and R. Pal, editors, *Genetic of insect vectors of disease*. Amsterdam:Elsevier. pp 617-650
- Laclavère, G., Bougnounou, O., Compaoré, G., Izard, M., et al., (1993).** Atlas du Burkina éd. j. a. 54pp
- Lewallen, L. L., Chapman, H. C. & Wilder, W. H. (1965).** Chemosterilant application to an isolated population of *Culex tarsalis*. *Moq. News* 25:16-18.
- Lindquist, D. A. (1984).** Atoms for pest control. *Internatl. Atomic Energy Agency Bull.* 26:22-25.
- Lines, J. D., Curtis, C. F., Myamba, J. & Njau, R. (1985).** Tests of repellent or insecticide impregnated curtains, bednets and anklets against malaria vectors in Tanzania. WHO/VBC/85.920.
- Lines, J. D. (1988).** Do agricultural insecticides select for insecticide resistance in mosquitoes? A look at the evidence. *Parasitology Today*, 4, 17-20.
- Lockwood, J. A., Sparks, T. C. & Story, R. N. (1984).** evolution of insect resistance to insecticides: areevaluation of the role of physiology and behavior. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 30:41-51.
- Majori, G., Sabatinelli, G. & Coluzzi, M. (1987).** Efficacy of permethrin impregnated curtains for malaria vector control. *Medical and Veterinary Entomology*, 1:185-192.
- Malcom, C. A. (1988).** Current status of pyrethroid resistance in anophelines. *Parasitology Today* 4:S13-S15
- Malcom, C. A. (1990).** Location of a gene conferring DDT resistance but no pyrethroid cross-resistance in larvae of *Anopheles stephensi*. *Genetica* 82:51-55
- Martinez-Torres, D., Devonshire, A. L. & Williamson, M. S. (1997).** Molecular studies of knockdown resistance to pyrethroids: cloning of domain II sodium channel gene sequences from insects. *Pestic. Sci.* 51, 265-270.

- Martinez-Torres, D., Chandre, F., Williamson, M. S., Darriet F., Bergé, J. B., Devonshire, A. L., Guillet, P., Pasteur, N. & Pauron, D. (1998).** Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (Kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Molecular biology*, 7(2), 179-184.
- Metcalf, R. L. (1984).** Judicious and Efficient Use of Insecticides on Rice. International Rice Research Institute Los Banos Phillipines pp. 70-89
- Metcalf, R. L. (1989).** Insects resistance to insecticides. *Pestic. Sci.* 26:333-358.
- Milani, R. (1954).** Comportamento mendeliano della resistenza alla azione abbatante del DDT: correlazione tran abbattimento e mortalità in *Musca domestica* L. *Riv. Parasitol* 15, 513-542.
- Miles, J. W. (1985).** In: Integrated mosquito control methodologies. Vol. 2: Biocontrol and other innovative components and future directions. Laird M. & Miles J.W. Eds, Academic Press, London Orlando, San Diego, New York, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, p 1-16.
- Miyazaki, M., Ohyama, K., Dunlap, D. Y. & Matsumura, F. (1996).** Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and kdr-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). *Mol. Gen. Genet.* 252:61-68.
- Morlan, H.B., McCray E. M. Jr. & Kilpatrick J. W. (1962).** Field tests with sexually sterile males for control of *Aedes aegypti*. *Mosq. News* 22:295-300
- Mouches, C., Pasteur, N., Berges, J. B., Hyrien, O., Raymond, M., de Saint Vincent, B. R., de Silvestri, M. & Georghiou, G. P. (1986).** Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex* mosquito. *Science*, 233:778-780.
- Mouchet, J. (1988).** Mini-review: agriculture and vector resistance. *insect science and its Applications*, 9, 297-302.
- Mouchet, J. & Brengues, J. (1990).** Les interfaces agriculture-santé dans les domaines de l'épidémiologie des maladies à vecteurs et de lutte antivectorielle. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 83, 376-393.
- Mutero, A., Pralavorio, M., Bride, J. M. & Fournier, D. (1994).** Resistance associated point mutations in insecticide insensitive AChE. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:5922-5926.
- OMS, (1970).** Résistance aux insecticides et lutte antivectorielle. Dix-septième rapport du comité OMS d'experts des Insecticides. *Série de rapports techniques* 443: 306pp.
- OMS, (1980a).** La lutte antivectorielle par l'aménagement de l'environnement. Quatrième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. *Série de rapports techniques* 649:80pp.

- OMS, (1980b). La résistance des vecteurs de maladies aux pesticides Cinquième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. *Série de rapports techniques* N° 655.
- OMS, (1982). Lutte biologique contre les vecteurs de maladies. Sixième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. *Série de rapports techniques* 679:48pp.
- Oppenoorth, F. J. (1985). Biochemistry and physiology of resistance. In:G.A Kerkut and LI Gilbert, editors, *Comprehensive Insect Physiology. Biochemistry and Pharmacology*. vol. 12 Oxford:Pergamon pp.731-773.
- Park, Y. & Taylor, M. J. F. (1997). A novel mutation L1029H in sodium channel gene hscp associated with pyrethroid resistance for *Heliothis virescens* (Lepidoptera:Noctuidae). *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 27:9-13.
- Patterson, R. S., Sharma, V. P., Singh, K. R. P., LaBrecque, G. C., Seetheram, P. L. & Grover, K. K. (1975). Use of radiosterilized males to control indigenous populations of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say: laboratory and field studies. *Moq. News* 35:1-7.
- Pauron, D., Barhanin, J., Amichot, M., Pralavorio, M., Bergé, J. B. & Lazdunski, M. (1989). Pyrethroid receptor in the insect Na⁺ channel: alteration of its properties in pyrethroid-resistant flies. *Biochemistry*, 28:1673-1677.
- Petrarca, V., Petrangeli, G., Rossi, P. & Sabatinelli G. (1986). Etude chromosomique d'*Anopheles gambiae* et d'*An. arabiensis* dans la ville de Ouagadougou, Burkina Faso. *Parassitologia*, 28:41-61
- Petrarca, V., Vercreyusse, J. & Coluzzi, M. (1987). Observations on the species of the *Anopheles gambiae* complex in the Senegal River Basin. *Med. Veter. Entomol.*, 1:303-312.
- Prapanthadara, L., Hemingway, J. & Ketterman, A. J. (1995). DDT-resistance in *Anopheles gambiae* (Diptera: *Culicidae*) from Zanzibar, Tanzania based on DDT dehydrochlorinase activity of glutathione-S-transferases. *Bull. Entomol. Res.*, 85:267-274.
- Rachou, R. G., Schinazi, L. A. & Moura Lima, M. (1973). An intensive study of the causes for the failure of residual DDT spraying to interrupt the transmission of malaria in Atalaya and Falla, two villages on the coastal plain of El Salvador, Central America. *Rev. Bras. Malariol. Doencas Trop.* 25:5-293
- Rai, K.S. (1964). Cytogenetic effects of chemosterilants in mosquitoes. II; Mechanism of apholate-induced in fecundity and fertility of *Aedes aegypti* (L.). *Biol. Bull.* 127:119-131
- Rai, K.S. (1969). The status of the sterile male technique for mosquito control. In: *sterile Male Technique for Eradication or Control of Harmfull insects*. Vienna:Internat. Atomic Energy Agency Press. pp. 107-114.

- Ranque, P., Touré, Y., Soula, G., Le,D., Diallo, Y., Traoré,o., Duflo, B. & Balique, H. (1984).** Use of mosquito nets impregnated with deltamethrin in mosquito control (abstract). *International Congress of Tropical Medicine and Malaria*, Calgary, pp. 124.
- Reisen, W. K., Asman S. M., Milby, M. M., Bock, M. E., Stoddard, P. J., Meyer, R. P. & Reeves, W. C. (1981).** Attempted suppression of a semi-isolated population of *Culex tarsalis* by release of irradiated mates. *Mosq. News* 4:736-744.
- Rishikesh, N., Clarke, J. L., Mathis, H. L., King, J. S., & Pearson, J. (1978).** Evaluation of decamethrin and permethrin against *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus* in a village trial in Nigeria. WHO/VBC/78.689.
- Robert, V., Ouary, B., Ouédraogo, V. & Carnevale, P. (1988).** La succession des espèces anophélienne et le cycle du riz; étude écologique des Culicidae adultes et larvaires dans la rizière de la Vallée du Kou, Burkina Faso. *Acta, tropica*, 45:351-359
- Robert, V. (1989).** La transmission du paludisme humain: la zone des savanes d'Afrique de l'Ouest. Thèse, Université de Paris 6 325pp.
- Roberts, D. R., Alecrim, W. D., Tavares, A. M. & McNeill, K. M. (1984).** Influence of physiological condition on th behavioral response of *Anopheles darlingi* to DDT. *Mosq. News* 44:357-361
- Roberts, D. R., Chareonviriyaphap, T., Harland, H. H. & Hshieh, P. (1997).** Methods of testing and analyzing excito-repellency responses of malaria vectors to insecticides. *J. Am. Mosq. control Assoc.* 13(1):13-17
- Rodhain, F. & Perz, C. (1985).** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire, éditeur Maloine s. a. Paris, France 458 pp.
- Rozendaal, J. A., Van Hoof. J. P. M., Voorham, J. & Oostburg, F. J. (1989).** Behavioral studies of *Anopheles darlingi* in suriname to DDT residues on house walls. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 5:339-350
- Service, M. W. (1977).** Mortalities of the immature stages of species B of the *Anopheles gambiae* complex in Kenya: comparison between rice fields and temporary pools, identification of predators, and effects of insecticidal spraying. *J. Med. Entomol.*, 13:535-545
- Sexton, J. D. (1994).** Impregnated bed nets for malaria control: Biological success and social responsibility. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50 (6) suppl., 72-81
- Shalaby, A. M. 1966.** Observations on some responses of *Anopheles culicifacies* to DDT in experiemental huts in Gujarat Statae, India. *Ann. Entomol.Soc. Am.* 59:938-944
- Smith, A. & Webley D. J. 1968.** A verandah-type hut for studying the house-frequenting habits of mosquitoes and for assessing insecticides. III. The effect of DDT on behaviour and mortality. *Bull. Entomol. Res.* 59:33-46.

- Smyth, T. Jr. & Roys C. C. (1955). Chemoreceptor in insects and the action of DDT. *Biol. Bull.*, 108:66-76.
- Snow, W. F. (1983). Mosquitoes production and species succession from an area of irrigated rice fields in the Gambia, West Africa. *J. Trop. Med. Hyg.*, 86:237-245.
- Snow, R. W., Jawara, M. & Curtis, C.F. (1987). Observations on *Anopheles gambiae* Giles s.l. (Diptera: Culicidae) during a trial of permethrin-treated bed nets in the Gambia. *Bulletin of Entomological Research*, 77:279-286.
- Snow, R. W., Lindsay, S. W., Hayes, R. J. & Greenwood, B. M. 1988. Permethrin treated bed nets (mosquito nets), prevent malaria in Gambian children. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 82:838-842.
- Soderlund, D. M. & Bloomquist, J. R. (1990). Molecular mechanism of insecticide resistance. In: B.E. Tabashnik and R.T. Roush, editors, *Pesticid Resistance in Arthropods*. New York: Chapman and Hall, pp.58-96.
- Soliman, S. A. & Cutkomp, L. K. (1963). A comparison of chemoreceptor and whole-fly responses to DDT and parathion. *J. Econ. Entomol.* 56:492-494.
- Traoré, I. D. (1996). Les déterminants économiques et institutionnels de la production cotonnière au Burkina Faso. Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou 73p.
- Vercruyse, J. & Jancloes, M. (1981). Etude entomologique sur la transmission du paludisme humain dans la zone urbaine de Pikine, Sénégal. *Cah. ORSTOM Sér. Ent. Med. Parasitol.*, 19:165-178
- Vulule, J. M., Beach, R. F., Atieli, F. K., Roberts, J. M., Mount, D. L. & Mwangi, R. W. (1994). Reduced susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin associated with the use of permethrin-impregnated bed nets and curtains in Kenya. *Medical and veterinary Entomology*, 8, 71-75.
- Vulule, J. M., Beach, R. F., Atieli, F. K., Mount, D. L. Roberts, J. M., & Mwangi, R. W. (1996). Long-term use of permethrin impregnated nets does not increase *Anopheles gambiae* permethrin tolerance. *Medical and veterinary Entomology*, 10, 71-79.
- Waterhouse, D. F., LaChance, L. E. & Whitten, M. J. (1976). Use of autocidal methods. In: C.B. Huffaker, P.S. Messenger, editors, *Theory and practice of biological control*. New York: Academic press. pp 637-659.
- Weidhaas, D. E., Schmidt, C.H. & Seabrook E. L.. (1962). Field studies of the release of sterile males for the control of *Anopheles quadrimaculatus*. *Moq. News* 22: 283-291.
- White, G.B. (1985). *Anopheles bwambae* sp. n., a malaria vector in the Semliki Valley, Uganda and its relationships with other sibling species of the *An. gambiae* complex (Diptera: Culicidae). *Sytem. Entomol.*, 10:501-522.
- Whitten. M. J. & Pal, R. (1974). Introduction In: R. Pal & M.J. Whitten, editors, *Genetic control of insects*. Amsterdam:Elsevier/Norh-Holland pp 1-16.

- Whitten, M. J. & Foster G.G. (1975).** Genetic methods of pest control. *Ann. Rev. Entomol.* **20**:461-476
- WHO (1984).** Report of the seventh meeting of the scientific working group on biological control of vectors. *Mimeogr. doc. TDR/BCV/SWG/84.3* 33pp.
- WHO (1993).** A global strategy for malaria control, Genève, 30pp.
- Williamson, M. S., Martinez-Torres, D., Hick, C. A. & Devonshire A. L. (1996).** Identification of mutations in the housefly paratype channel sodium gene associated with Knockdown resistance (Kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, **252**:51-60.
- Yasuno, M., MacDonald, W. W., Curtis, C. F., Grover, K. K., Rajagopalan, P. K., Sharma, L. S., Sharma, V. P., Singh, D., Singh, K. R. P., Agarwal, H. P., Kazmi, S. J., Menon, P. K. B., Menon, R., Razdan, R. K., Samuel, D. & Vaidyanathan, V. (1978).** A control experiment with chemosterilized male *Culex pipiens fatigans* Wied in a village near Delhi surrounded by a breeding-free zone. *Jap. J. Sanit. Zool.* **29**:325-343.

PROTOCOLE DE PREPARATION DES PAPIERS IMPREGNES

*Déterminer le nombre total de papiers à imprégner (nombre de pièces)

*Calculer le poids total d'huile nécessaire à l'imprégnation

Poids total d'huile= 648mg/papier (3.6g/m²) x nombre total de papiers à imprégner

*Déterminer le volume total d'huile à utiliser

Volume total d'huile= $\frac{\text{Poids total d'huile}}{\text{Densité spécifique de l'huile}}$

*Déterminer la quantité de matière active nécessaire en fonction du % d'insecticide à préparer

Exemples de cacul:

Exemple 1: Préparation de 125 papiers de DDT 4%

-Poids total d'huile nécessaire (risella): $125 \times 648\text{mg} = 81 \text{ g}$

-Volume total d'huile nécessaire (risella): $81/0.864 = 93.75\text{ml}$

-Quantité de matière active nécessaire (pureté du DDT 98%): $4/100 \times 93.75 \times 100/98 = 3.8265\text{g}$

Exemple 2: Préparation de 125 papiers de Malathion à 5%

-Poids total d'huile nécessaire (olive): $125 \times 648\text{mg} = 81\text{g}$

-Volume total d'huile nécessaire (olive): $81/0.9165 = 88.4\text{ml}$

-Quantité de matière active nécessaire (pureté du malathion 96%):
 $5/100 \times 88.4 \times 100/96 = 4.6042\text{g}$

Exemple 3: Préparation de 125 papiers de Perméthrine à 0.25%

-Poids total d'huile nécessaire (silicone): $125 \times 648\text{mg} = 81\text{g}$

-Volume total d'huile nécessaire (silicone): $81/0.98 = 82.65\text{ml}$

-Quantité de matière active nécessaire (pureté de la perm. 96.2%):
 $0.25/100 \times 82.65 \times 100/96.2 = 0.2149\text{g}$

*Remplir un flacon en verre de 250ml avec le volume total d'huile nécessaire.

*Peser la quantité de matière active nécessaire et la diluer dans l'acétone en complétant le volume du flacon à 250 ml

*Agiter fortement le mélange.

La préparation de 125 papiers nécessite un volume total d'huile/acétone de 250ml sachant qu'un seul papier sera imprégné avec 2ml de mélange. Les flacons en verre de 250ml peuvent être conservés au réfrigérateur pendant 2 mois.

Tableau 4 Doses diagnostiques de quelques insecticides proposées par l'OMS (double de la concentration la plus faible donnant 100% de mortalité sur une souche sensible).

DDT	OC	4% 1 666.7mg/m ²
Malathion	OP	5% 1 972.2mg/m ²
Fénitrothion	OP	1% 394.4mg/m ²
Propoxur	C	0.1% 39.4mg/m ²
Perméthrine	P	0.25%* 91.7mg/m ²
Deltaméthrine	P	0.025% 9.2mg/m ²
Lambdacyhalothrine	P	0.1%** 36.7mg/m ²
Fipronil	P-P	0.5% 183.3mg/m ²

*dose diagnostique de l'OMS pour la perméthrine ramenée à 1% par le Laboratoire des Insectes Nuisibles à Montpellier (LIN), car pas assez forte.

**dose diagnostique de l'OMS pour la Lambdacyhalothrine ramenée à 0.025% par le LIN car trop forte.

Tableau 5: Conseils de préparation des solutions d'imprégnation avec les pyréthrinoides pour 10 papiers.

concentration et dose effective	pesée (produit pur)*	dilutions intermédiaires	solution** d'imprégnation (SI)
0.025% (9mg/m ²)	126.9mg dans 50 ml d'acétone (SM)	20 fois soit 1.5ml de SM + 28.5ml d'acétone (SF)	13 ml de SI + 7ml de silicone
0.1% (36mg/m ²)	126.9mg dans 50 ml d'acétone (SM)	5 fois soit 6 ml de SM + 24 ml d'acétone (SF)	13 ml de SF + 7ml de silicone
0.25% (91.7mg/m ²)	126.9mg dans 50 ml d'acétone (SM)	2 fois soit 15 ml de SM + 15 ml d'acétone (SF)	13 ml de SF + 7ml de silicone
0.5% (183.3mg/m ²)	126.9mg dans 50 ml d'acétone (SM)	néant	13 ml de SF + 7ml de silicone
1% (366.7mg/m ²)	253.8mg dans 50 ml d'acétone (SM)	néant	13 ml de SF + 7ml de silicone
5% (1833.3mg/m ²)	634.6mg dans 50 ml d'acétone (SM)	néant	13 ml de SF + 7ml de silicone

*pesée à ajuster en fonction du degré de pureté de l'échantillon de matière active utilisée

**pour les dilutions successives, diluer SI de 2 en 2 en mélangeant à parts égales SI avec une solution silicone 7/20ème/acétone 13/20ème

PROTOCOLE D'IMPREGNATION DES MOUSTIQUAIRES

-Soit de la perméthrine vendue sous une formulation émulsifiée concentrée à 50% (500EC), cela correspond à 500g/l.

-Soit une moustiquaire mesurant 15m² de surface à traiter à la dose de 500mg/m²

-Soit le volume de rétention d'eau de la moustiquaire faisant 400ml

-Calcul le poids de la matière active de l'insecticide nécessaire à l'imprégnation de la moustiquaire à la dose de 500mg/m².

$$ma = 500\text{mg/m}^2 \times 15\text{m}^2 = 7\,500\text{mg (7.5g)}$$

-Calcul du volume d'insecticide correspondant

$$v = 7.5\text{g} \times 1\,000\text{ml}/500\text{g} = 15\text{ml}$$

-Effectuer la dilution en mettant 15ml d'insecticide dans 385ml d'eau (en supposant la densité de l'insecticide égale à 1).

-Tremper la moustiquaire en l'appuyant et en la tournant dans tous les sens pour bien faire pénétrer l'insecticide dans toutes les couches du tissu

-L'étaler sur une surface plane pour séchage

Pour de petites surfaces, la mesure du taux de rétention d'eau manque de précision et il est préférable de procéder comme suite:

-Place le tissu régulièrement plié dans un récipient de manière à ce qu'il s'ajuste parfaitement au fond du récipient.

-Verser le plus régulièrement possible à l'aide d'une pipette, sur le tissu, la solution d'imprégnation.

-Appuyer sur le tissu avec les doigts (gantés) à plusieurs reprises pour faire bien pénétrer l'insecticide dans toutes les couches du tissu et en vérifiant qu'il ne reste pas de solution non absorbée au fond du récipient

-Laisser secher le tissu dans le récipient pendant 24h, puis le mettre dans un papier aluminium lui même placé dans une pochette plastique bien scellée. Ainsi conditionné, le tissu se conserve plusieurs mois à température ambiante de la pièce.

EXTRACTION ADN TOTAL

- Chauffer le tampon LG (gardé à -20°C) au bain marie à 65°C pendant 10-15min
- Mettre individuellement des moustiques entiers dans des tubes numérotés (autoclavés) et y ajouter 100µl de tampon LG, puis broyer. Pendant ce temps numéroter d'autres tubes dans de la glace
- Porter les moustiques broyés au bain marie à 65°C pendant 30 min
- Centrifuger à 4°C pendant 10 min à 14 000 rpm et récupérer le surnageant
- Ajouter 14 ml d'acétate de potassium 8M et laisser incuber sur de la glace pendant 30 min (pendant ce temps numéroter d'autres tubes dans de la glace)
- Centrifuger pendant 20 min à 14 000 rpm à 4°C et récupérer le surnageant
- Ajouter 14 ml d'acétate de potassium 8M et laisser incuber sur de la glace pendant 30 min (pendant ce temps numéroter d'autres tubes dans de la glace)
- Centrifuger pendant 20 min à 14 000 rpm à 4°C et récupérer délicatement le surnageant
- Ajouter 200µl d'éthanol absolu
- Mélanger par inversion (ne pas vortexer)* et centrifuger à 14 000 rpm à 4°C pendant 15 min
- Verser le surnageant et faire secher le culot en retournant le tube sur un papier buvard
- Ajouter 150µl d'éthanol 70%
- Mélanger par inversion* et centrifuger à 14 000 rpm à 4°C pendant 5 min
- Verser le surnageant et secher le culot sur papier buvard (refaire cette étape si le culot paraît sale)
- Secher sur speed vac pendant 8min (les tubes demeurant ouverts dans le speed)
- Ajouter 20µl d'eau mQ et faire un quick run (Centrifuger à 14 000 rpm pendant 1 min)
- Garder les tubes au frigo toute une nuit
- Faire migrer 3µl d'ADN dans 2µl de bleu de charge sur 1% de gel d'agarose pour s'assurer que l'extraction a été bonne

TAMPON LIVAK GRIND (LG)

- | | |
|-------------------------|--|
| Pour 100 ml de tampon : | 1.6 ml de NaCl 5M (0.1M) |
| | 5.48g de sucrose (0.16M) |
| | 1.573g de Tris (0.13M) |
| | 10.16 ml EDTA 500mM, pH 8 (50.8 mM) |
| | 5ml SDS 10% solution mère et 0.5% solution fille |
| | SDS est un détergent dans Sigma |

Filtrer sur 0.22µm, aliquoter par 10 ml et stocker à -20°C

PCR DE DIAGNOSTIC ARABIENSIS/GAMBIAE

Préparation du prémix

Concentrations initiales	Concentrations finales
Tampon d'enzyme 10X	1X
MgCl ₂ 25 mM	1mM
dNTP 25 mM	0.2mM d'une solution au 1/10
Primer Ag (gambiae)	10pM
Primer Aa (arabiensis)	10pM
Primer Am (melas)	10pM
Primer Un (Universal antisens primer)	10pM
Taq DNA Polymérase	1.5U
DNA (extraction totale)	2µl d'une dilution au 1/10
H ₂ O (stérile)	QSP 50µl

Conditions de la réaction:

1 cycle:	94°C	3 min
	50°C	30 s
	72°C	30 s
40 cycles	94°C	30 s
	50°C	30 s
	72°C	30 s

Garder l'ADN amplifié à 4°C

Préparer un gel d'agarose à 1.5% en TBE (Tris/Borate/EDTA) 1X

Ajouter 10µl de bromure d'éthidium (10mg/l) pour 100 ml de gel

Faire migrer 10 µl de produit amplifié avec un peu de bleu de bromophénol et 5µl de marqueur M

Visualiser le résultat aux UV

Résultats:	<i>An. melas</i>	462 bp
	<i>An gambiae</i>	386 bp
	<i>An. arabiensis</i>	313 bp

PCR RECHERCHE DU GENE KDR

Préparation du prémix

Concentrations initiales	Concentrations finales
Tampon d'enzyme 10X	1X
MgCl ₂ 25 mM	1.5mM
dNTP 25 mM	0.1mM d'une solution au 1/10
Agd1	40pM
Agd2	40pM
Agd3L	20pM
Agd4L	20pM
Taq DNA Polymérase	1.5U
DNA (extraction totale)	2µl d'une dilution au 1/10
H ₂ O (stérile)	QSP 50µl

Conditions de la réaction:

1 cycle: 94°C 3 min
 48°C 30 s
 72°C 30 s

45 cycles 94°C 30 s
 48°C 30 s
 72°C 30 s

Garder l'ADN amplifié à 4°C

Préparer un gel d'agarose à 1.5% en TBE (Tris/Borate/EDTA) 1X

Ajouter 10µl de bromure d'éthidium (10mg/l) pour 100 ml de gel

Faire migrer 10 µl de produit amplifié avec un peu de bleu de bromophénol et 5µl de marqueur M

Visualiser le résultat aux UV

Résultats:	Souche sensible	120 bp (SS)
	Souche résistante	200 bp (RR)
	Souche hétérozygote	120 bp et 200 bp (RS)

Il doit toujours y avoir la bande commune à 300 bp amplifié avec Agd1 et Agd2

CONCENTRATIONS DES PRIMERS

PCR Kdr

Agd1 359 pM/ μ l	par PCR: 1.11 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 40pM/R ^o)
Agd2 220 pM/ μ l	par PCR: 1.2 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 40pM/R ^o)
Agd3 321 pM/ μ l	par PCR: 0.6 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 20pM/R ^o)
Agd4 332 pM/ μ l	par PCR: 0.6 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 20pM/R ^o)

PCR Diagnostic gambiae/arabiensis

AG 317 pM/ μ l	par PCR: 0.3 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 10pM/R ^o)
AA 215 pM/ μ l	par PCR: 0.46 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 10pM/R ^o)
AM 236 pM/ μ l	par PCR: 0.42 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 10pM/R ^o)
UN 279 pM/ μ l	par PCR: 0.36 μ l d'une dilution au 1/10 (soit 10pM/R ^o)

PCR MOPTI/SAVANE

A0 178 pM/ μ l	par PCR: 0.28 μ l de la solution mère (soit 50pM/R ^o)
A1.3 212 pM/ μ l	par PCR: 0.23 μ l de la solution mère (soit 50pM/R ^o)

SEQUENCES DES DIFFERENTS PRIMERS UTILISES
--

PCR Kdr

Agd1	5' ATAGATTCCCCGACCATG 3'
Agd2	5' AGACAAGGATGATGAACC 3'
Agd3	5' AATTTGCATTACTTACGACA 3'
Agd4	5' CTGTAGTGATAGGAAATTTA 3'

PCR Diagnostic gambiae/arabiensis

AG(gambiae)	5' CTGGTTTGGTCGGCACGTTT 3'
AA(arabiensis)	5' AAGTGTCCCTTCTCCATCCTA 3'
AM(melas)	5' GTGACCAACCCACTCCCTTGA 3'
UN(universel)	5' GTGTGCCCTTCCTCGATGT 3'

PCR MOPTI/SAVANE

A0	5' ATGCCTGAACGCCTCTAAGG 3'
A1.3	5' ATCTGGGACTTAGCGT 3'

RESUME

La lutte antivectorielle, une composante importante dans la stratégie globale de contrôle du paludisme, s'est longtemps appuyée sur l'emploi d'insecticides divers (les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates...), en pulvérisations intradomiciliaires et en épandages dans les gîtes à moustiques comme larvicides. Malheureusement ces modes de traitement se sont heurtés à d'énormes difficultés qui n'ont pas toujours permis d'atteindre les résultats escomptés. Il s'agit entre autres d'un problème de résistance développée par les vecteurs et d'une analyse insuffisante des espèces en relation avec leurs comportements face aux insecticides. Ces dix dernières années l'utilisation de matériaux imprégnés de pyréthrinoïdes, comme moyen de protection individuelle et communautaire contre le paludisme a montré qu'en Afrique, on pouvait réduire la morbidité de 50 à 60% et la mortalité d'environ 20%. Cette méthode de lutte basée sur la participation active des communautés présente un rapport coût/efficacité acceptable. La menace potentielle qui ferait une entrave à la réussite d'une telle méthode de lutte, outre le problème de la vulgarisation au plan opérationnel est le phénomène de la résistance que pourraient développer les vecteurs vis-à-vis de ces insecticides.

Notre étude a porté sur l'évaluation du statut de sensibilité des vecteurs par rapport à ces nouvelles d'insecticides d'une part et d'autre part sur la compréhension des mécanismes impliqués dans cette résistance.

L'étude a été réalisée dans 7 sites suivant un transect prenant en compte des situations écoclimatiques variables. Depuis Bobo-Dioulasso jusqu'à Ouagadougou, des prélèvements larvaires ont été effectués. Ces larves ont été mises en élevage à l'insectarium du Centre Muraz et les adultes émergents ont été testés à la perméthrine, à la deltaméthrine et au DDT. La mortalité et l'effet knock down (kd) de l'insecticide ont été relevés lors des tests. Une souche d'*An. gambiae* sensible, la souche kisumu, a également été testée afin de servir de référence.

Les mortalités enregistrées sont variables d'un site à un autre et dans tous les cas témoignent de la présence de la résistance à la perméthrine et au DDT. Les plus faibles résistances ont été enregistrées dans la région de Bobo-Dioulasso en rapport avec la quantité d'insecticides utilisés en agriculture dans cette zone. Nous avons par ailleurs mis en évidence l'existence du gène kdr qui est associé à cette résistance. Cependant la faible fréquence de ce gène enregistré dans certaines localités où la résistance a été décelée fait penser à l'existence d'un autre mécanisme de résistance (enzymatique). L'analyse de l'effet kd a donné une augmentation significative des valeurs de kd50 et kd90 confirmant la résistance déjà mentionnée par les faibles mortalités.

Les recherches portant sur le phénomène de la résistance méritent d'être encouragées et pourraient s'orienter sur la compréhension des facteurs socio-environnementaux et les mécanismes réels qui y sont impliqués.

Mots clés: *Anopheles gambiae* sl - *Anopheles funestus* - résistance - pyréthrinoïdes - gène kdr - paludisme - Burkina Faso.