

Liste des Acronymes

AChE: Acétylcholinestérase

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADNr: Acide désoxyribonucléique ribosomal

AID: Aspersions intra domiciliaires d'insecticide à effet rémanent

An: *Anopheles*

BTI : *Bacillus thuringiensis*

ANSD: Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie

CNaVdp: Canal Sodium Voltage dépendant

CTAB: Cetyltriméthylammonium bromure

CYP: Cytochrome P450

DDT: Dichlorodiphényltrichloroéthane

dNTP: désoxyribonucléotides

EDTA: Ethylène diamine tétra acétique

GABA: Acide gamma amino butyrique

GPS : Global position satellite

GST: Glutathion-S-transférase

IMP: Intentional mismatch primer

KD: Knock Down

Kdr-E: Knock down resistance-East

Kdr-W: Knock down resistance-West

LAL: Lutte anti larvaire

LAV: Lutte anti vectorielle

MILDA: Moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action

INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie parasitaire qui demeure un problème de santé publique majeure. Il est causé par un parasite unicellulaire du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par certaines espèces de moustiques du genre *Anopheles*. Le paludisme est l'une des principales causes de mortalité et de morbidité dans le monde. La transmission de la maladie a été notée dans 91 pays et territoires situés pour la plupart en Afrique Subsaharienne (OMS, 2016). C'est dans cette région de l'Afrique où l'on enregistre le plus fort taux avec 93% des décès liés au paludisme au niveau mondial, soit une prévalence de 219 cas pour 1000 habitants exposés au risque de paludisme (OMS, 2018). Entre 2010 et 2017, l'incidence du paludisme a baissé de 72 cas pour 1000 habitants exposés au risque de paludisme à 59 cas pour 1000 à l'échelle mondiale. Au même moment, le taux de mortalité a aussi bien baissé au niveau mondial, avec 607 000 cas de décès en 2010 contre 435000 morts enregistrés en 2017 (OMS, 2018). C'est chez les enfants âgés de moins de 5 ans, constituant la couche la plus vulnérable, qu'il est enregistré deux morts toutes les deux minutes, avec 266 000 cas de décès liés au paludisme en 2017, soit une légère baisse par rapport à 2016 (OMS, 2018). La lutte contre le paludisme comporte des interventions contre le parasite et différente approche pour le contrôle des vecteurs.

La lutte anti-vectorielle (LAV) est une des options dans la stratégie mondiale de lutte contre le paludisme. Elle consiste en des actions physiques, chimiques et biologiques dans le but de détruire ou, à défaut, de réduire les densités et/ou la longévité des populations de vecteurs (Carnevale *et Robert*, 2009). Aujourd'hui, l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILDA) et la pulvérisation intra-domiciliaire /aspersion intra-domiciliaire d'insecticide à effet rémanent (PID/AID) sont dans le plan de la prévention pour faire reculer le paludisme « Roll Back Malaria » adopté en 1998 par l'OMS et ses partenaires (Banque Mondiale, UNICEF, PNUD). Cependant, l'utilisation des pesticides et herbicides en agriculture et les grandes campagnes de lutte contre les vecteurs ont favorisé le développement de la résistance chez de nombreuses populations de moustiques vecteurs du parasite du paludisme (OMS, 2018). L'apparition de la résistance pose un problème sur le choix du produit insecticide à utiliser avant d'en arriver à des populations de vecteurs fortement résistantes. C'est ainsi que notre étude vise à évaluer dans les régions sud du Sénégal où la résistance des vecteurs est présent (Niang *et al.*, 2016), l'intensité de la résistance aux insecticides des populations d'*An. gambiae* s.l., vecteur de l'agent responsable du paludisme. Pour atteindre cet objectif, notre étude a été structurée en deux parties :1) la

mesure de la sensibilité et de l'intensité de la résistance aux insecticides des populations d'*An. gambiae* s.l., et 2) l'étude des mécanismes de résistance impliqués et les fréquences des mutations Ace-1 et Kdr.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1. Généralités sur le paludisme

Le paludisme est une maladie parasitaire causée par un protozoaire du genre *Plasmodium* appartenant à l'embranchement des *Apicomplexa*, à la classe des *Haematozoa*, à l'ordre des *Haemosporida* et à la famille des *Plasmodiidae*. Cinq espèces plasmodiales sont responsables de l'infection palustre chez l'homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*. Ce dernier habituellement retrouvé chez des singes en Asie du Sud-Est est récemment passé chez l'homme (Singh *et al.*, 2004). Cependant, *P. falciparum* reste le parasite le plus important dans la transmission du paludisme par l'intermédiaire de vecteurs du genre *Anopheles* et responsable de 99,7% des cas de paludisme en Afrique (OMS, 2018).

I-2. Généralités sur les vecteurs du paludisme

Il existe environ 500 espèces d'anophèles dont une cinquantaine est capables de transmettre le *Plasmodium* à l'homme (Carnevale *et Robert al.*, 2009). Dans la pratique, 20 espèces assurent l'essentiel de la transmission du *Plasmodium* humain dans le monde. Les autres ne participent pas à la transmission soit parce qu'elles piquent de préférence les animaux, soit parce qu'elles sont réfractaires aux *Plasmodium* ou à une souche de *Plasmodium*.

Les anophèles appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, au sous-embranchement des Antennates, à la super classe des Uniramés (Tracheates), à la classe des Hexapodes, à la sous-classe des Ptérygotes, à l'ordre des Diptères, au sous-ordre des Nématocères, à la famille des *Culicidae*, à la sous famille des *Anophelinae* et au genre *Anopheles* (Knight et Stone, 1977). Celui-ci est subdivisé en 6 sous-genres (Harbach, 2004), dont le sous-genre *Cellia* qui regroupe l'essentiel des vecteurs de *Plasmodium* humains. Les anophèles sont aussi vecteurs de quelques arboviroses et de la filaire de Bancroft (*Wuchereria bancrofti*). En Afrique subsaharienne, sur les 150 espèces répertoriées, une douzaine présente une compétence vectorielle très variable (Fontenille *et al.*, 2005; Carnevale et Robert, 2009). Au Sénégal, sur la vingtaine d'espèces d'anophèles recensées, quatre sont des vecteurs majeurs et trois des vecteurs secondaires (Diagne *et al.*, 1994 ; Faye *et al.*, 2011). Des quatre vecteurs majeurs, trois appartiennent au complexe d'espèces *An. gambiae* (il s'agit d'*An. gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis*) et *An. funestus* étant la quatrième. Les vecteurs secondaires ou vecteurs d'importance locale sont *An. melas*, *An. pharoensis* et *An. nili*. Ces vecteurs sont les cibles principales des mesures de lutte anti-vectorielle.

I-3. La lutte anti-vectorielle

Depuis longtemps, l'homme cherche à se protéger contre l'agression des arthropodes vecteurs ou nuisibles. La lutte anti-vectorielle (LAV) consiste à supprimer ou à diminuer le contact

homme-vecteur ou à réduire la longévité des vecteurs (Mouchet *et al.*, 2004; Carnevale et Robert, 2009). Cependant, pour qu'une lutte soit efficace, elle doit tenir compte avant tout de la biologie, du comportement des vecteurs cibles et du contexte épidémiologique dans lequel s'effectue la transmission (WHO, 1995). La lutte peut être physique, chimique ou biologique.

I-3-1. La lutte physique

Encore appelée méthode écologique, elle consiste en une modification du milieu par assainissement de l'environnement à grande échelle (travaux de drainage) ou à l'échelle domestique (hygiène péri-domestique) (Pagès *et al.*, 2007). L'assainissement et le drainage des zones marécageuses ont été les principales méthodes de lutte contre les vecteurs avant l'avènement des insecticides chimiques (Mouchet *et al.*, 1991). L'utilisation de moustiquaires de lit et de grillage moustiquaire aux portes et fenêtres des habitations participent également à la lutte physique.

I-3-2. La lutte biologique

Elle consiste en l'utilisation de prédateurs (poissons larvivores) ou de bactéries entomopathogènes (Pagès *et al.*, 2007). En santé publique, les seuls succès enregistrés par l'utilisation de poissons larvivores culiciphages concernent les zones de paludisme instable où les gîtes larvaires sont souvent très limités et faciles d'accès (Alio et Delphini, 1985 ; Louis et Albert, 1988). Concernant les bactéries entomopathogènes, *Bacillus thuringiensis* (Bti), avec ses quatre toxines, est une alternative intéressante aux larvicides chimiques (Mittal, 2003). D'autres organismes (bactéries, champignons) ont également divers niveaux d'effet sur les moustiques.

I-3-3. La lutte chimique

Les méthodes chimiques font intervenir de très nombreux produits qui peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Ces substances sont très variées de par leur mode d'action et leur modalité d'utilisation dans les programmes de lutte. Ce sont soit des répulsifs, des attractifs, des larvicides, des adulticides, des synergistes ou des chimio-stérilisants. Pour la plupart ce sont des produits qui agissent par contact ou par ingestion. L'utilisation des insecticides chimiques dans la lutte contre les arthropodes a commencé avec le DDT puis les organophosphorés et les carbamates, suivis des pyréthrinoides. De nouvelles molécules sont actuellement disponibles (néonicotinoïdes, benzyolurées...).

I-4. Les insecticides utilisés dans la lutte contre les vecteurs du paludisme

I-4-1. Insecticides et mode d'action

Les insecticides synthétiques sont pour la plupart des molécules plus actives et stables que les composés naturels. Les insecticides les plus utilisés tant en agriculture qu'en santé publique appartiennent aux familles chimiques des organochlorés, pyréthri-noïdes, carbamates et organophosphorés.

I-4-1-1. Les organochlorés (OC)

Les organochlorés sont les premiers insecticides utilisés en santé publique et qui comprennent, entre autres, le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), le lindane (HCH) et les cyclodiènes (dieldrine). Le DDT fut synthétisé en 1873 mais ce n'est qu'en 1939 que ses propriétés insecticides puissantes furent découvertes (Darriet et Robert, 2007). Il fut très largement utilisé en agriculture et en santé publique où il contribua à sauver des millions de vies humaines (Mouchet, 1994). Les résultats intéressants qu'il a donnés dès les premiers traitements furent à la base du lancement par l'OMS, du programme mondial d'éradication du paludisme vers le milieu de la décennie 1950. Le DDT agit sur le système nerveux périphérique et central des insectes (Hassal, 1990). La dieldrine agit sur les sites gamma-aminobutyrique (GABA) en inhibant la dynamique du canal chlore qui reste en position ouverte. Ce dysfonctionnement entraîne une inactivation de la membrane nerveuse qui se traduit par une paralysie du système nerveux (Darriet et Robert, 2007). L'accumulation du DDT dans l'environnement et les chaînes alimentaires ainsi que l'apparition de résistance des vecteurs ont entraîné son interdiction dans de nombreux pays.

I-4-1-2. Les pyréthri-noïdes (PYR)

Les pyréthri-noïdes sont classés en deux groupes selon qu'ils possèdent un groupement cyané en alpha de la liaison ester (groupe II : deltaméthrine, lambda-cyhalothrine, alpha-cyperméthrine....) ou non (groupe I : perméthrine, bifenthrine). Les pyréthri-noïdes sont caractérisés par une toxicité faible vis-à-vis des mammifères et par une action rapide sur les insectes (effet knock-down=KD). Ils agissent sur la même cible que le DDT, en augmentant la fréquence des décharges nerveuses sur les canaux sodiques (Na⁺) pour les pyréthri-noïdes de (type I) ou le temps d'ouverture des canaux (type II) (Salgado *et al.*, 1983). Ils sont les seuls insecticides utilisables pour l'imprégnation des moustiquaires ou des rideaux.

I-4-1-3. Les organophosphorés (OP)

Les organophosphorés sont des dérivés de l'acide phosphorique synthétisés pour la première fois en 1942 (Darriet et Robert, 2007). Ils comprennent certains produits (malathion, fénitrothion, pirimiphos-méthyl, etc.). Ils sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Cette

inhibition entraîne un blocage des sites d'action, suivi d'un accroissement rapide de l'acétylcholine (Ach) qui peut s'accumuler jusqu'à 260% de la normale (Champ, 1985). La propagation de l'influx nerveux est bloquée et l'insecte meurt par paralysie.

I-4-1-4. Les carbamates (CAR)

Les carbamates regroupent les dérivés de l'acide carbamique (bendiocarb, propoxur, etc.). Comme les organophosphorés, ils inhibent l'acétylcholinestérase. Compte tenu de leur coût et de leur toxicité sur les mammifères, ils sont peu utilisés en santé publique.

I-4-2. La résistance aux insecticides

La résistance aux insecticides est un caractère héréditaire, dont l'évolution dans les populations d'insectes repose sur la sélection d'allèles apparus soit par mutation spontanée, soit par migration (Guillet *et al.*, 1997). Elle est définie par l'OMS comme «l'apparition dans une population, d'individus possédant la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce» (OMS, 1957).

I-4-2-1. Les mécanismes de résistance

Plusieurs étapes se succèdent avant que l'insecticide n'exerce son action. L'insecticide doit entrer en contact avec l'insecte, pénétrer dans son organisme puis être transporté jusqu'à sa cible avec laquelle il interagit (figure 2). Tout mécanisme qui modifie l'une de ces étapes peut donc conduire à une résistance (Soderlund et Bloomquist, 1990).

Les mécanismes de résistance sont de deux types : la résistance comportementale et la résistance physiologique.

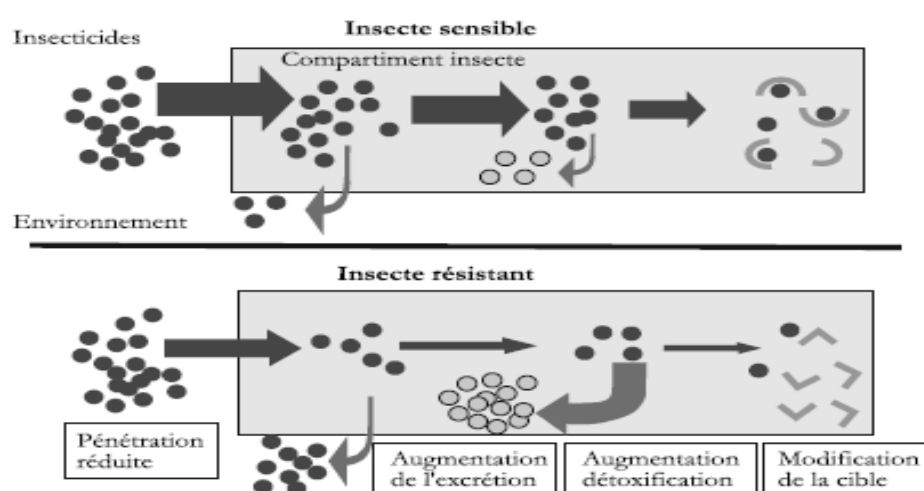


Figure 1 : Les mécanismes impliqués dans la résistance physiologique aux insecticides,

I-4-2-2. La résistance comportementale

Elle résulte de toute modification du comportement de l'insecte qui tend à l'empêcher d'être en contact avec l'insecticide. Elle peut être qualifiée par trois types de changement comportemental :

- Le changement temporaire de comportement qui disparaît au cours des années suivant l'abandon de l'insecticide (Hamon *et al.*, 1963). La principale cause est l'effet irritant de l'insecticide sur les moustiques (Metcalf *et al.*, 1945). Sous l'action irritante de l'insecticide, les moustiques s'envolent plus ou moins rapidement des surfaces traitées (Coluzzi, 1958).
- Le deuxième changement de comportement chez les populations d'insectes est l'augmentation de l'irritabilité naturelle aux insecticides. La population de vecteurs tués par l'insecticide est alors très réduite et les insectes évitent de plus en plus les surfaces traitées (Hamon *et al.*, 1963).
- Le troisième consiste au changement de comportement durable qui persiste après l'arrêt d'utilisation d'insecticides et se manifeste même sur les surfaces non traitées.

I-4-2-3. La résistance physiologique

Elle comprend la résistance métabolique et la résistance par modification de cible.

I-4-2-3-1. La résistance métabolique

Cette catégorie regroupe les mécanismes biochimiques entraînant une dégradation de l'insecticide en métabolites moins toxiques ou inactifs et plus faciles à excréter (plus faible lipophilie), diminuant ainsi la quantité d'insecticide atteignant la cible. Généralement, trois catégories d'enzymes interviennent dans cette fonction, à savoir les estérases, les mono-oxygénases à cytochrome P450 et les glutathion-S-transférases.

- Les Estérases sont l'un des principaux mécanismes de résistance aux organophosphorés et aux carbamates (Rubert *et al.*, 2016). Les enzymes sont surproduites et peuvent représenter jusqu'à 12% des protéines totales de l'insecte (Fournier *et al.*, 1987).
- Les mono-oxygénases à cytochrome P450 regroupent des familles de gènes intervenant toutes dans des réactions d'oxydation. La famille des cytochromes Cyp6 est reconnue comme participant activement à la résistance aux insecticides (Djogbenou *et al.*, 2014). La surexpression du gène Cyp6P3 chez *An.gambiae* s.l. entraîne une résistance au DDT et aux pyréthrinoïdes, de même la surexpression de Cyp6M2 diminue la sensibilité aux carbamates (Djogbenou *et al.*, 2014).

- Les glutathion-S-transférases (GST) sont des enzymes qui se lient généralement aux molécules toxiques pour les convertir en composées non toxiques (Rubert *et al.*, 2016). Les GST sont impliqués dans la résistance multiple aux quatre classes d'insecticides (Hemingway *et al.*, 2004 ; Corbel et N'Guessan, 2013).

I-4-2-3-2. La résistance par modification de la cible

Ce mécanisme de résistance trouvé chez les insectes est dû à une modification de la cible de l'insecticide. Les principales cibles des insecticides sont des récepteurs ou des enzymes du système nerveux : acétylcholinestérase, canal sodium voltage dépendant et les récepteurs GABA. Ce mécanisme de résistance, très efficace, conduit à une résistance croisée à tous les insecticides qui agissent sur la même cible (Djogbenou, 2009). Ces résistances par modification du site sont liées principalement aux mutations Kdr, Rdl et Ace-1R.

La mutation Kdr (Knock-down résistance) se trouvant à la position 1014 (L1014F et L1014S) du segment hydrophobe 6 du domaine II du gène codant pour le canal sodium voltage dépendant (Rubert *et al.*, 2016) provient de la substitution de la leucine par la phénylalanine (L1014F ou mutation Kdr-W) en Afrique de l'Ouest ou par la serine (L1014S ou mutation Kdr-E) en Afrique de l'Est (Silva *et al.*, 2014 ; Chandre *et al.*, 1999 ; Mulamba *et al.*, 2014 ; Verhaeghen *et al.*, 2006). La mutation L1014F (Leu-Phe) confère une résistance croisée aux pyréthrénoïdes et au DDT en Afrique de l'Ouest (Dong, 1997). La résistance à la dieldrine (Rdl) ou la mutation du récepteur GABA résulte de la substitution de l'alanine par la serine ou la substitution de l'alanine par la glycine (A296S/G) (Wondji *et al.*, 2011). Le gène Ace-1 chez les moustiques code pour l'enzyme acétylcholinestérase (AChE1) dans le système nerveux (Weill *et al.*, 2004). La mutation ponctuelle par substitution de la glycine-serine en position 119, G119S est à l'origine de la résistance observée. Cette mutation confère une résistance aux carbamates et aux organophosphorés (Djogbenou *et al.*, 2010).