

En nous suggérant ce travail, en nous guidant dans sa réalisation, vous nous avez appris à être claires et concis.

Soyez rassuré, cher Maître de notre profond attachement

## LISTE DES ABREVIATIONS

**A** : Adénine

**ACh**: acétylcholine

**ACHE**: acétylcholine estérase

**An** : *Anophèles*

**B** : forme Bamako

**Bti** : *Bacillus thuringiensis israelensis*

**Bt**: *Bacillus thuringiensis*

**C**: cytosine

**Cx**: Culex

**D/C/m**: Dormeurs par Case et par Mois

**DDT**: **Dichloro-diphenyl- trichloroethane**

**Dipps**: Dipping

**DL50:** Dose Létale 50

**Ex:** exemple

**Fig.:** figure

**GIS:** Geographical information system

**GA:** *gambiae*

**H:** heure

**Ha :** hectare

**HHC:** hexachlorocyclohexane

**g/ha:** gramme par hectare

**IAS :** indice d'antigène sporozoitique

**ITU:** International Toxic Units

**Kdr:** Knock down Resistance

**Kg: Kilogramme**

**Km :** kilomètre

**L :** Litre

**M:** Forme Mopti

**Mg:** milligramme

**Moy:** moyenne

**MRTC:** Malaria Research and Training Center

**MI :** Moustiquaire imprégnée

**MS :** Moustiquaire simple

**Min :** minimum

**Max :** maximum

**Tab. :** Tableau

**M :** forme Mopti

**µl:** microlitre

**µm :** micromètre

**ml :** millilitre

**mm :** millimètre

**mn :** minute

**Nb :** Nombre

**Nym :** Nymphe

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé

**Ops:** organophosphorés

**PCR :** Polymerase chaîne reaction

**piq/h/m:** piqûre par homme et par mois

**pH:** Proton en hydrogène

**PNLP :** Programme National de Lutte contre le Paludisme

**% :** Pourcentage

**S :** forme Savane

**s.l:** sens large

**s.s:** sens strict

**Taq :** Tacus aquaticus

**t:** temps

**T:**tymine

**TBE :** Tris Borate EDTA

**TIE:** taux d'inoculation entomologique:

**UN :** Universel

**UV :** Ultraviolet

**WDG:** wide Dispersible Granule

## **SOMMAIRE**

## **Pages**

<b>1. Introduction :</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Objectifs :</b> .....	<b>4</b>
2.1 Objectif général.....	4
2.1 Objectifs spécifiques :.....	4
<b>3. Généralités :</b> .....	<b>5</b>
3.1 Généralités sur le parasite et le vecteur du paludisme : .....	5
3.2 Généralités sur les substances utilisées comme larvicide ou insecticide dans la lutte contre les vecteurs du paludisme :.....	7
3. 2.1 Les classes d'insecticides et actions :.....	8
3. 2.1.1 Bactéries entomopathogènes :.....	8
3. 2.1.2 Les organophosphorés (OPs) :.....	8
3. 2.1.3 Organochlorés :.....	8
3. 2.1.4 Carbamates :.....	9
3. 2.1.5 Analogues des hormones d'insectes :.....	9

3.2.1.6 Les insecticides minéraux :.....	9
3. 2.1.7 Pyréthrinés/pyréthrinoïdes : .....	10
3.2.2 Méthode de Lutte contre les vecteurs du paludisme :.....	10
3.2.2 .1. La lutte physique :.....	10
3.2.2.2. Lutte génétique :.....	10
3.2.2.3. Lutte chimique:.....	10
3.2.2.4 Lutte biologique:.....	10

### **Rappel sur le *Bacillus thuringiensis israelensis***

<b>(BTI) :.....</b>	<b>11</b>
❖ <i>Definition</i> :.....	11
❖ <i>Historique</i> :.....	12
❖ <i>Description</i> :.....	13
❖ <i>Classification</i> :.....	13
❖ <i>Cycle vital</i> :.....	14
❖ <i>Les différentes formulations et dosages du Bti</i> :.....	15
❖ <i>Mode d’action du Bti</i> :.....	16
❖ <i>Paramètres influençant l’efficacité du Bti</i> :.....	17

## **4. Méthodologie :.....21**

### **4.1. Site d’étude :..... 22**

4.1.1. Banambani :..... 22

6.1.2. N’Gabakoro-Droit :.....24

### **4.2. Période et type d’étude :.....29**

### **4.3. Matériels et Méthodes :..... 29**

4.3.1. Collecte des données :.....29

4.3.1.1. Etudes des gîtes larvaires:..... 29

▶ Identification et géo-positionnement des gîtes larvaires :..... 29

▶ Suivis et prospections des gîtes larvaires :..... 29

▶ Collecte des données sur les gîtes :..... 29

4.3.1.2. Etude de la densité larvaire:.....	30
4.3.1.3. Etude de la densité des moustiques adultes :.....	30
4.3. 2. Traitement des gîtes larvaires :.....	31
4.3. 2.1. Saison sèche (février – mai) :.....	31
4.3. 2.2. Saison des pluies (mai –novembre) : .....	31
4.3.3. Matériel: .....	31
✚ OSATU star 16 Agro: .....	31
*Description: .....	31
<b>4.4. Collecte et analyse des données :.....</b>	<b>33</b>
<b>4.5. Considérations Ethiques: .....</b>	<b>34</b>
<b>5. Résultats :.....</b>	<b>35</b>
5.1 Population des vecteurs :.....	35
5.2 Densité par case des adultes d' <i>An. gambiae s.l</i> :.....	37
5.3 Densité larvaire d' <i>An. gambiae s.l</i> (Effet de Bti 2008) :.....	39
5.4 Densité des nymphes d' <i>An. gambiae s.l</i> (Effet de Bti 2008) :...	40
5.5 Taux d'agressivité d' <i>An. gambiae s.l</i> :.....	41
5.6 Taux d'indice d'antigène sporozoitique (IAS) :.....	44
5.7 Etude de la transmission du paludisme : taux d'inoculation entomologique :.....	45
5.8 Etude comparative des mesures de protection dans les deux villages :.....	47
<b>6. Discussions :.....</b>	<b>48</b>
<b>7. Conclusion et recommandons :.....</b>	<b>51</b>
<b>8. BIBLIOGRAPHIE :.....</b>	<b>53</b>
<b>9. Annexes :.....</b>	<b>63</b>

## 1. INTRODUCTION :

Le paludisme est la protozoose la plus répandue dans le monde. Il existe à l'état endémo-épidémique dans la zone intertropicale du globe. Selon l'OMS, plus de 2 milliards d'individus sont exposés à travers le monde ; 300-500 millions par an sont infectés dont 270-480 millions en Afrique [49].

Au Mali, le paludisme est la première cause de mortalité et de morbidité avec des taux respectifs de 26,13% et 27,16% [54]. Environ 95% des cas de paludisme sont dus à *Plasmodium falciparum* [24]. La transmission du paludisme au Mali est assurée par deux principaux vecteurs : *Anophèles gambiae s.l.* qui présente une structure génétique très complexe en rapport avec les conditions écologiques [66] et *Anophèles funestus* [67].

Depuis l'antiquité, l'homme a cherché des moyens de protection contre les piqûres d'insectes. Ces moyens vont de la construction des villages loin des marées, à l'assèchement des collections d'eau où se développent les larves d'insectes.

L'avènement des insecticides a suscité un espoir d'éradiquer le paludisme des zones où la maladie sévit de manière endémique. C'est ainsi sur l'initiative de l'OMS, un vaste programme d'éradication du paludisme avait été lancé dans les années 1950.

Devant l'apparition de cas de résistance tout espoir d'éradication fut brisé. Les premières stratégies de lutte étaient essentiellement basées sur : la lutte anti vectorielle, la prophylaxie, le diagnostic et le traitement des cas [58].

Dans les campagnes de lutte anti-moustique, les matières actives des insecticides appartiennent aux familles suivantes : les organochlorés, les organophosphorés, les pyrèthrinoïdes de synthèse, et les carbamates de synthèse.

Ces préparations, bien qu'elles soient révélées très efficaces sur les moustiques, présentent plusieurs inconvénients, notamment l'accumulation significative de matières actives dans les écosystèmes traités (aquatique et terrestre) constitue un problème de pollution [7].

Par ailleurs, les substances actives des produits utilisés présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non cibles.

A tous ces inconvénients, s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques chez les moustiques [61].

Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de nouvelles alternatives de contrôle des moustiques est d'avantage encouragée.

Les bactéries, acaricides, Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie comme anti-malaria, fongicides etc.... peuvent être aussi utilisées comme insecticide de remplacement.

Le *Bacillus thuringiensis israelensis* est une bactérie qui vit naturellement dans les sols; elle est utilisée depuis plus de 20 ans comme agent de lutte biologique ou bio pesticide.

D'après les bibliographies de l'OMS (1979) et de Maffei (1997), près de 300 références existent dont 191 concernent des tests d'impact sur les Culicidae et les Simulidae (Diptères cibles).

Cependant une partie de la faune non cible peut-être touchée par le traitement au Bti, en particulier, des travaux montrent l'existence d'un impact sur les peuplements de Diptères Chironomidés [44; 1; 62 ; 17].

Des travaux réalisés en Haute-Camargue, ont montré un impact de la dose normale prescrite (2 l.ha-1) sur les densités larvaires 5 jours après le traitement et un impact des doses 4l.ha-1 et 8l.ha-1 sur la structure du peuplement d'adultes de chironomidés.

Une étude réalisée au sud de la France a montré une forte sensibilité des larves d'*Aedes* colonisant les marais temporaires au Bti.

Mondialement, les formulations à base de Bti sont ou ont été utilisées dans plus de 30 pays pour des programmes de lutte, partant de villages jusqu'à des mégaprojets couvrant la superficie de la France. Autorisés au Canada depuis 1982, les produits à base de Bti sont couramment utilisés dans le contrôle des populations de moustiques et de mouches noires [13]. Au Mali,

de façon générale, les études menées sur l'activité larvicide des bactéries vis-à-vis des larves de moustiques sont très limitées voir même négligeables. Ce travail a été réalisé d'une part pour promouvoir l'utilisation du Bti et d'autre part pour contribuer aux études de sensibilité des moustiques à ce bio pesticide au Mali. Ainsi, il a pour but d'étudier l'activité larvicide du Bti sur les moustiques après traitement des gites larvaires à Banambani et N'Gaboro droit (site témoins) cercle de Kati.



## 2. Objectif

### 2.1 Objectif général :

Evaluer l'activité larvicide du Bti sur les moustiques avant et après traitement des gîtes larvaires à Banambani et N'Gbakoro droit.

### 2.2 Objectifs spécifiques :

- Evaluer l'effet du Bti sur les larves de moustiques après traitement ;
- Estimer les paramètres entomologiques avant et après traitement ;
- Estimer la perception de la population humaine de Banambani et N'Gbakoro droit des moustiques et la démoustication par l'approche socio-économique.
- Identifier les formes moléculaires d'*anophèles gambiae* dans les deux localités.

### **3. Généralités**

#### **3.1 Généralités sur le parasite et le vecteur du paludisme :**

##### **3.1.1 Le parasite**

Le *Plasmodium* humain est un protozoaire de la classe des sporozoaires appartenant au phylum des *Apicomplexa*. Le plasmodium se développe pendant une partie de sa vie dans les hématies, d'où son nom hématozoaire [63]]. Le cycle biologique du *Plasmodium* nécessite deux hôtes, un hôte définitif vertébré (l'homme) et un hôte intermédiaire invertébré (l'anophèle).

##### **3.1.2 Le vecteur**

Le vecteur du paludisme est un moustique du genre *Anophèles* [23]. Il appartient au règne animal, à l'embranchement des arthropodes, à la classe des insectes, à l'ordre des diptères nématocères, à la famille des *Culicidae* et à la sous-famille des *Anophelinae*. Son développement comprend quatre phases successives : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago.

##### **3.1.3 Œufs**

Un moustique femelle ne copule qu'une fois dans sa vie. Habituellement, après la copulation, elle a besoin d'un repas de sang pour faire mûrir le premier lot d'œufs. Un repas sanguin est généralement pris tous les deux jours, conduisant à la maturation du lot d'œufs suivant.

Chaque lot comporte 100 à 400 œufs qui sont déposés sur la surface de l'eau lors de la ponte [71]. Ce sont des petits corps de 1mm au moins, blancs, puis brun noirâtres, peu résistant à la dessiccation.

Les œufs sont pondus détachés, naviculés avec des sacs d'air [38] et restent à la surface de l'eau durant l'embryogénèse [14]. L'éclosion se produit généralement 24 à 36 heures après la ponte, mais elle peut être retardée par des baisses de température [31] ou la nature de l'eau [71].

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

jusqu'à 5 à 7 fois. Dans les meilleures conditions tropicales, la durée de vie des moustiques est de 3 à 4 semaines

### **3.1.4 Larves**

Des œufs de moustiques sortent des larves métapneustiques, c'est-à-dire dépourvues de stigmates respiratoires en arrière de leur corps [14]. Dès sa sortie de l'œuf, la larve flotte parallèlement à la surface de l'eau. Elle se nourrit de particules présentes dans l'eau [49].

La larve qui sort de l'œuf est appelée le premier instar ; après un ou deux jours, elle mue, abandonnant son enveloppe et devient ainsi le deuxième instar, suivi par le troisième et le quatrième instar, à des intervalles d'environ deux jours par stade. En milieu tropical, le temps de développement aquatique est de 8 à 10 jours environ, mais ce délai est plus long en condition de basse température [49].

### **3.1.5 Nymphe ou Puce**

La puce est le stade pendant lequel une transformation majeure a lieu, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte. La puce a la forme d'une virgule. Elle reste à la surface de l'eau, peu mobile et ne se nourrit pas [49].

Le corps correspondant au céphalothorax, est muni d'une paire de trompettes respiratoires, tandis que la pente correspondante à l'abdomen se termine par une paire de palettes natatoires [42].

Le stade nymphal dure 2 à 3 jours, après lesquels la carapace de la puce se fend, le moustique adulte émerge et se repose temporairement à la surface de l'eau jusqu'à ce qu'il soit capable de s'envoler.

### **3.1.6 Adulte**

La copulation a lieu aussitôt après que le moustique adulte soit sorti de la puce. La femelle ne copule généralement qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à cette occasion assez de sperme pour féconder tous les lots d'œufs successifs. Normalement, elle ne prend son premier repas sanguin qu'après la copulation, mais parfois le premier repas sanguin peut être pris par une

femelle encore vierge. Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces), tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul repas de sang [49].

### **3.2 Généralités sur les substances utilisées comme larvicide ou insecticide dans la lutte contre les vecteurs du paludisme :**

La question du contrôle des populations de moustiques vecteurs de maladies est extrêmement complexe. La plupart des méthodes de lutte anti vectorielle ont été ou sont appliquées à ce groupe en fonction des circonstances et des moyens disponibles.

Les méthodes visant à supprimer ou diminuer le contact homme-moustique (moustiquaires, répulsifs), ainsi que celles qui sont basées sur des modifications du milieu naturel ou anthropique (assèchement des zones marécages, interventions sur la flore aquatique, sur la salinité de l'eau, suppression de certains gîtes artificiels et protection des autres etc....) ont longtemps été les moyens les plus utilisés et connaissent de nos jours un regain d'intérêt.

La lutte imagocide par les insecticides à effet rémanent a connu des succès spectaculaires dans certains pays. Mais après quelques années, les espoirs ont été déçus. Des cas de résistance aux insecticides avaient été observés chez certaines espèces d'*Anophèles*. Au même moment, des études avaient révélé l'apparition de souches d'hématozoaires qui sont résistantes à certains antipaludéens de synthèse dont les amino-4-quinoléines [36].

Ces deux phénomènes ont entraîné un changement d'approche dans la lutte contre le paludisme. On préconisa alors la lutte intégrée comprenant la prophylaxie, le traitement des cas et la lutte anti-vectorielle. En matière de lutte anti-vectorielle, l'outil de prédilection demeure l'utilisation d'insecticide. Un insecticide idéal pour la lutte contre les vecteurs de maladies doit avoir les propriétés suivantes [64] :

- une grande efficacité sur les vecteurs cibles ;
- une efficacité à faible dose, sans provoquer de résistance ;

- une grande activité sur les autres insectes nuisibles de la maison ;
- une faible toxicité sur l'homme et les autres mammifères ;
- des effets minimes sur l'environnement ;
- une stabilité dans le milieu extérieur mais se dégradant dans la nature quand son activité disparaît.

### **3. 2.1 Les classes d'insecticides et actions**

Les insecticides sont classés en fonction de leurs compositions chimiques.

#### **3. 2.1.1 Bactéries entomopathogènes**

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

Exemples : *Bacillus thuringiensis* (**objet de notre étude**) qui est une bactérie productrice de toxine et *Bacillus sphaericus*

#### **3. 2.1.2 Les organophosphorés (OPs)**

Ce sont des inhibiteurs de la cholinestérase [29]. Cette inhibition a comme conséquence l'accumulation de l'acétylcholine (ACh) entre deux neurones ; soit entre le neurone par les jonctions (neuromusculaires) ou synapses de muscle. Cette accumulation provoque la contraction rapide des muscles volontaires et entraînant finalement la paralysie [68]. Les organophosphorés sont généralement divisés en trois groupes : dérivés aliphatiques, phényliques, et hétérocycliques. Les premiers composés comme le parathion, étaient toxiques, mais les dérivés modernes ont une toxicité faible pour les vertébrés homéothermes et les poissons. Ils sont considérés comme de bons insecticides.

**Exemples :** Malathion, Fenitrothion, Fenthion, chlorpyrifos (Durban), Temephos (Abate), Diclovos ou DDVP, Pirimiphosmethyl et Iodofenphos

### **3. 2.1.3 Organochlorés :**

#### **- DDT (Dichloro-diphenyl- trichloroethane)**

Le DDT agit sur le système nerveux central et périphérique, modifie la cinétique d'inactivation du canal sodium, il a une action rapide (Knock down) et est irritant [67]. Sa toxicité est assez faible contre les vertébrés, il a une forte rémanence, et est vendu moins cher. Il est malheureusement très stable et entraîne une accumulation dans la chaîne alimentaire. Le DDT a été et reste dans certains pays le produit de base de prévention du paludisme [51].

Il a une corrélation négative avec la température. Si la température ambiante est faible, le produit devient plus toxique. [16]. Les autres Organochlorés sont : **HHC** (hexachlorocyclohexane) et son isomère Lindane ou Gammaxane [68], Cyclodiènes.

### **3. 2.1.4 Carbamates**

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

### **3. 2.1.5 Analogues des hormones d'insectes**

Ils sont répartis en deux groupes : Juvenoïdes et les Ecdysoïdes [27]

- **les Juvenoïdes** sont (méthoprène et Pyriproyfen) actifs sur les larves des derniers stades inhibent la nymphose et Diflubenzuran qui inhibe la sclérification tégumentaire est peu employé [52]. Il limite l'éclosion des œufs.

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

### **3.2.1.6 Les insecticides minéraux**

- **Huiles minérales** : dérivés du pétrole, sont employées depuis longtemps sur les gîtes larvaires de moustiques, où elles agissent en asphyxiant et en intoxicant les larves [53]. Elles sont jugées cependant très polluantes.

- **Arsenicaux** : le produit le plus connu est le vert de Paris (acétoarsénite de cuivre). Connu pour ses propriétés larvicides [29], le produit technique contient 90% de sulfate d'acétoarsénite. Il agit sur les larves d'anophèle ; c'est un produit très dangereux. Sa DL50 est de 100 mg/kg (voie orale) et de 2400 mg/kg par voie dermique chez le rat blanc [51].

Ses avantages sont surtout son manque de résistance croisée avec les autres insecticides et ses inconvénients sont l'importance du volume du matériel, sa faible rémanence et surtout sa toxicité [64].

### 3. 2.1.7 Pyréthrinés/pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes perturbent la conduction de l'influx nerveux par le blocage des canaux sodium [5]. On distingue:

**Pyréthrinoïdes naturelles** : sont issues du pyrèthre. Esters de l'acide Chrysantémique et de différents alcools ;

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

**Pyréthrinoïdes stables** : ils sont de deux types : le type 1 (Perméthrine) et le type 2 qui regroupe les cyanés, deltaméthrine, lamdacyhalothrine ;

**Pseudo-pyréthrinoïdes** : ces produits n'ont pas de liaison ester et ont une toxicité beaucoup plus faible que celle des pyréthrinoïdes. Ils modifient la cinétique d'inactivation du canal sodium.

Rappelons que les pyréthrinoïdes de type 1 et le DDT ont un mode d'action similaire car ils maintiennent le canal sodium en position ouverte de façon transitoire. Quant aux pyréthrinoïdes de type 2, ils maintiennent la membrane cellulaire dépolarisée.

### 3.2.2 Méthode de Lutte contre les vecteurs du paludisme

Il existe deux principales stratégies : le contrôle larvaire, le contrôle des

moustiques adultes, qui sont essentiellement basées sur les méthodes de **lutte suivantes : physique, génétique, biologique, chimique.**

### **3.2.2 .1. La lutte physique**

C'est une modification intentionnelle du biotope visant à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent. On distingue :

- \* le drainage
- \* la mise en boîte des eaux
- \* le comblement
- \* le boisement

### **3.2.2.2. Lutte génétique**

Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement [65].

Les manipulations intéressent également les plantes telles que les algues qui se reproduisent dans les gîtes larvaires. Ces algues génétiquement modifiées par intégration de gènes de toxines bactériennes agissent sur les larves de moustiques.

### **3.2.2.3. Lutte chimique**

L'essentiel des mesures prises contre les moustiques repose sur la lutte chimique par l'utilisation d'insecticide. Suivant les cas, on peut adopter des mesures anti-larvaires (dispersion d'insecticide dans les gîtes) ou des techniques adulticides (pulvérisation intra domiciliaire) [48].

La lutte chimique se fait à l'emploi des produits synthétiques ou végétaux qui tuent les insectes par ingestion ou par contact. Le mode d'application des produits est fonction de l'écologie du vecteur et du stade visé.



**3.2.2.4 Lutte biologique :** Elle consiste à introduire dans le biotope des moustiques, des organismes d'espèces différentes qui sont leurs ennemies naturelles. C'est le cas des poissons herbivores (carpe) qui sont utilisés en Chine pour dévorer les herbes qui servent d'abris aux larves de moustiques [69] et de la bactérie, Bti, *Bacillus sphaericus* qui provoquent une mortalité chez les larves de moustique des genres *Culex* et *Anopheles*, à degré moindre sur les *Aedes*.

#### **Rappel sur le *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI)**

##### **Définition:**

- ***Bacillus thuringiensis* (Bt)** est un bacille Gram positif, aérobic et sporulé. On le retrouve dans pratiquement tous les sols, l'eau, l'air et le feuillage des végétaux. Il fait partie d'un groupe de six bacilles, rassemblés sous le terme « groupe *Bacillus cereus* » : *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis* et *B. thuringiensis*.

*Bacillus thuringiensis* a été isolé en 1901 par le bactériologiste japonais S. Ishiwata à partir de vers à soie qu'il peut infecter et tuer. La première description scientifique a été faite par l'allemand Ernst Berliner en 1911.

##### **Historique :**

Le Bti est une bactérie vivant naturellement dans les marais.

C'est en Israël qu'à l'été de 1976 une bactérie démontrant des propriétés hautement larvicides pour les moustiques fut découverte dans une petite mare du désert du Néguev, au cours d'un inventaire des parasites et des pathogènes naturels de ces insectes [30].

Depuis cette découverte, de nombreux travaux ont été menés sur cette bactérie.

D'après les bibliographies de l'OMS (1979) et de Maffei (1997) près de 300 références existent :

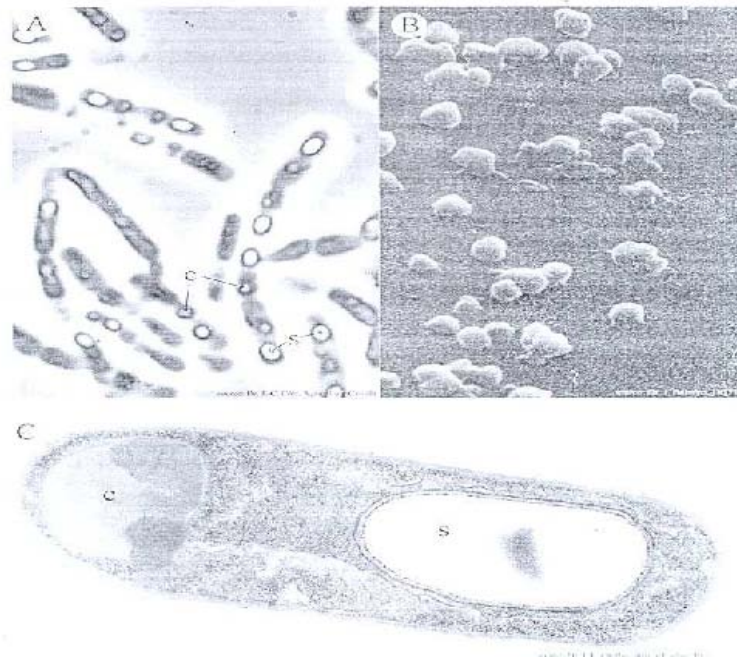
- 191 concernent des tests d'impact sur les Culicidae et les Simulidae (Diptères cibles).
- 102 (dont des rapports non publiés) concernent les effets sur la faune non cible (25% en rivière, 25% en marais et 50% au laboratoire).

En particulier, des travaux montrent l'existence d'un impact sur les peuplements de Diptères chironomidés [44 ; 62 ; 17].

### ❖ **Description :**

À l'état végétatif, *Bacillus thuringiensis* a la forme d'un bâtonnet de 5µm de long sur 1µm de large, et est pourvu de flagelles.

Il se distingue des autres bacilles du groupe cereus par sa capacité à synthétiser et excréter des cristaux mortellement toxiques pour certains insectes [32; 41]. Ces cristaux ne sont pas minéraux, mais formés de l'association de plusieurs protéines qui, ensemble ont une propriété insecticide sur les lépidoptères, les coléoptères et/ou les diptères.



**Figure 1** : Photographies de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

(Source : Dr. J.O. Lacoursière et Dr. J. Boisvert, Université du Québec à Trois-Rivières).

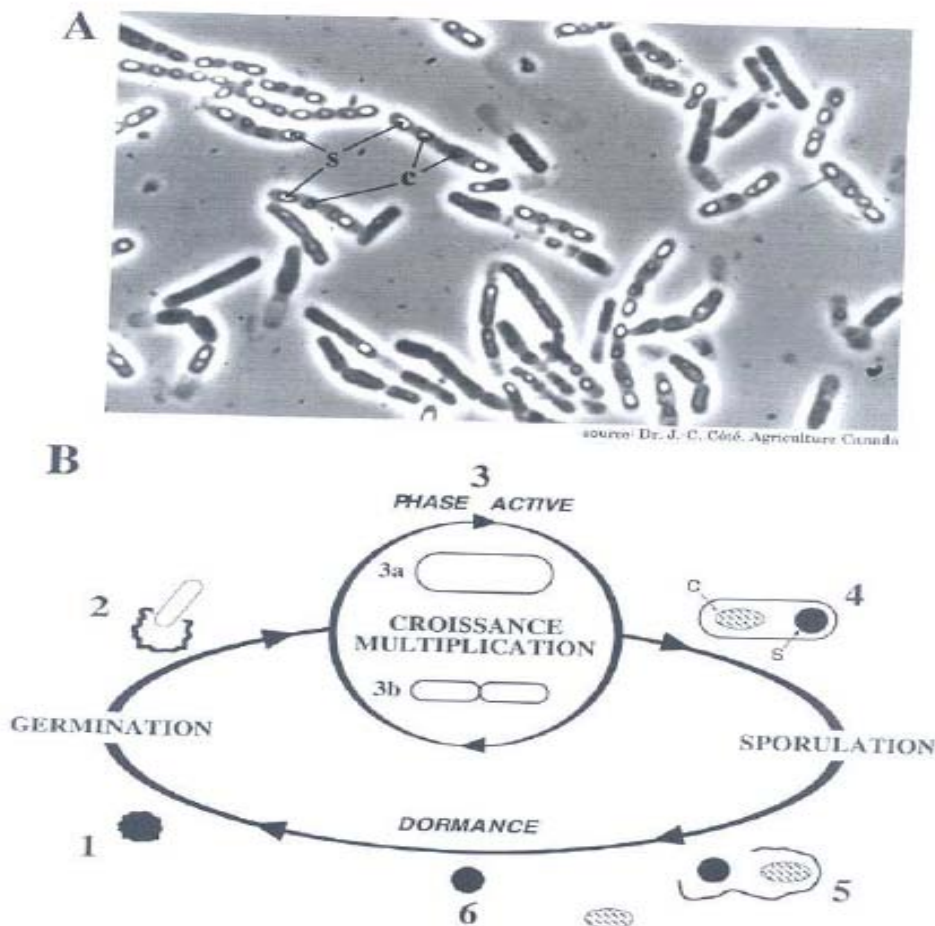
### ❖ **Classification :**

Le Bti appartient au Règne des *Bacteria*, à l'Embranchement des *Firmicutes*, à la Classe des *Bacilli*, à l'Ordre des *Bacillales*, à la Famille des *Bacillaceae* et au Genre *Bacillus*.

### ❖ **Cycle vital :**

La germination de la bactérie entraîne une réhydratation de la spore avec production de la cellule végétative, cette cellule végétative va croître et se multiplier pour donner une spore et de l'inclusion cristalline ; qui seront libérées après éclatement de la cellule.

La spore résiste aux conditions défavorables dans la période de dormance.



**Figure 2 :** Photographie d'une culture (A) et Schématisation du cycle vital d'un *Bacillus thuringiensis*(B)

Source : Dr. J.O. Lacoursière et Dr. J. Boisvert, Université du Québec à Trois-Rivières).

### ❖ **Les différentes formulations et dosages du Bti :**

Les produits commerciaux à base de *Bti* se présentent généralement sous quatre grands types : les poudres, les granules, les briquettes et les liquides. Le choix de la formulation à employer dépend de l'insecte visé par le contrôle, du type d'environnement à traiter et de son accessibilité, et de la persistance de l'effet toxique visé par l'applicateur.

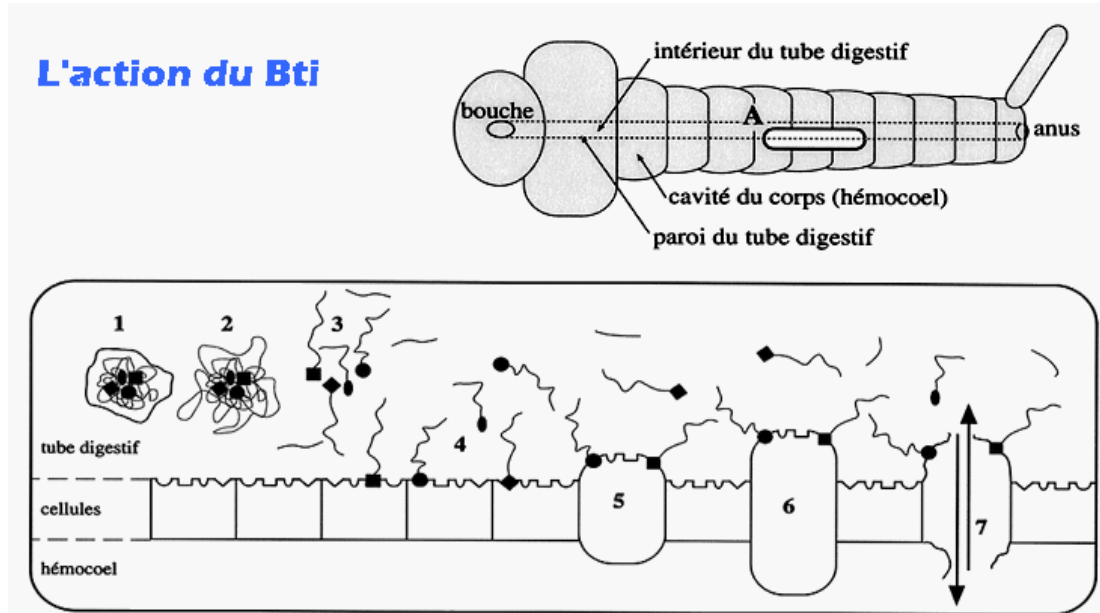
**Tableau 1 :** Liste de quelques larvicides à base de *Bti*.

<b>Nom du produit</b>	<b>Usage habituel</b>	<b>Activité garantie</b>
VECTOBAC 200 G	Larves de moustiques	200 ITU/mg
TEKNAR GRANULES	Larves de moustiques	260 AAU / mg
VECTOBAC 600L	Larves de moustiques et mouches noires	600 ITU/mg
VECTOBAC 200G	Larves de moustiques	200 ITU/mg
VECTOBAC 1200L	Larves de moustiques et mouches noires	1200 ITU/mg
AQUABAC XT	Larves de moustiques et mouches noires	1200 ITU/mg
AQUABAC (200G)	Larvicide granulaire	200 ITU/mg
AQUABAC II XT	Larves de moustiques et mouches noires	1200 ITU/mg

### ❖ **Mode d'action du Bti :**

Pour être actif, le Bti doit être ingéré par un organisme. Plus précisément, cet organisme doit ingérer un cristal composé de 4 pro-toxines ou  $\delta$  - endotoxines (delta-endotoxines) ; résultat de sporulation de la bactérie. Sous certaines conditions de pH et de composition enzymatique, les pro toxines inactives se transforment en toxines actives en passant dans le tube digestif de l'organisme en question.

Ces toxines se fixent sur un récepteur spécifique situé sur les cellules en brosse de l'épithélium intestinal, entraînant la lyse des cellules et la mort de l'insecte [19 ; 39].



(Source : Dr. J.O. Lacoursière et Dr. J. Boisvert, Université du Québec à Trois-Rivières).

**Figure 3 :** Représentation schématique du mode d'action des cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur une larve de moustique.

Après ingestion, les cristaux sont dissouts dans le liquide alcalin du tube digestif (1), libérant de longues chaînes de protéines (2), qui sont par la suite sectionnées par des enzymes pour produire les segments toxiques (3).

Ces toxines se fixent sur des récepteurs spécifiques localisés sur la membrane des cellules formant la paroi du tube digestif (4). Les cellules affectées se gonflent et éclatent (étapes 5, 6 et 7) suite au déséquilibre biochimique induit par l'activité des toxines entraînant ainsi la perforation de la paroi du tube digestif [18]. Ceci provoque le passage du suc digestif dans la cavité corporelle de l'insecte et le mouvement inverse de l'hémolymphe (l'équivalent du sang chez les insectes) (étape 7). Bien que certains effets neurotoxiques aient été aussi observés [20], il semble qu'une perte complète d'intégrité causée par l'éclatement de son tube digestif serait la cause de la mort chez un insecte empoisonné aux cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* [37, 22].



Plusieurs étapes sont donc nécessaires à l'obtention d'un effet toxique occasionné par des cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Sous des conditions naturelles, c'est-à-dire dans son habitat, un insecte pour mourir doit :

- ingérer le cristal de *Bti*, donc le capturer et l'avalier;
- posséder un tube digestif à pH hautement alcalin;
- posséder les enzymes protéolytiques capables de transformer les pro toxines en molécules toxiques et finalement,
- posséder les récepteurs membranaires adéquats, c'est-à-dire compatibles avec les toxines libérées par les enzymes.

#### ❖ **Paramètres influençant l'efficacité du Bti :**

**Espèces** : les espèces de moustiques démontrent différents niveaux de susceptibilité aux cristaux de Bti. En général, les larves de *Culex* sont les plus susceptibles, les larves d'*Aedes* et d'*Ochlerotatus* sont autant ou légèrement moins susceptibles et les larves d'*Anopheles* sont les plus résistantes lorsqu'elles sont exposées à la même quantité de cristaux de Bti. Cette différence de susceptibilité, aussi présente à l'intérieur d'un même genre (ex. les espèces appartenant aux genres *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus* ou *Anopheles*), serait causée par des variations comportementales [2] et physiologiques des différentes espèces, mais elle est clairement reliée au comportement des cristaux dans l'environnement [3; 57 ; 45]. Par exemple, les larves de *Culex* et d'*Aedes* se nourrissent activement à travers toute la colonne d'eau d'une mare. Puisque les cristaux de Bti sédimentent lentement, les larves de ces deux genres sont donc en position d'ingérer une quantité létale de cristaux durant cette période. Par comparaison, les larves d'*Anopheles*, qui se nourrissent principalement à la surface d'une mare, n'auront peut-être pas le temps d'ingérer la quantité létale de cristaux puisque ceux-ci se déposent sur le fond de la mare. Une formulation adéquate peut cependant modifier cette susceptibilité relative. Les larves d'*Anophèles* démontrent un taux plus élevé de mortalité si les cristaux de Bti sont livrés par une formulation flottante [21; 4]. Bien qu'une différence

quant au type et au nombre de « récepteurs » puisse exister entre les diverses espèces de moustiques [10], le comportement alimentaire serait l'une des causes principales des variations de susceptibilité observées. D'après Mahmood (1998), les larves d'*Anophèles* ingèrent 10 fois moins de nourriture par unité de temps que les larves d'*Aèdes*. Ceci expliquerait, en partie, la différence de leur sensibilité envers le Bti.

### **Stades larvaires :**

Généralement, chez la plupart des espèces étudiées, les larves les plus jeunes sont plus susceptibles que les plus âgées. En vieillissant, les larves deviennent significativement moins susceptibles à la même quantité de cristaux de Bti : en général, des larves de stade II sont 1,5 à 5 fois plus susceptibles que des larves de stade IV [45; 47]. Les larves de stade IV ne se nourrissent que très peu, car elles commencent la nymphose (stade où la métamorphose au stade adulte se produit). Tout comme les larves en phase de mue (le passage d'un stade larvaire à un autre), les nymphes sont totalement insensibles aux cristaux de Bti puisqu'elles ne s'alimentent pas. Comme il existe toujours une partie de la population en phase de mue (l'éclosion des oeufs et le développement larvaire sont non synchrones pour plusieurs espèces), un traitement larvicide ne peut donc induire la mortalité chez 100 % de la population. De même, un traitement tardif sur une population en nymphose ne produira que des résultats mitigés.

**Température :** habituellement, une même quantité de cristaux de Bti induit un taux de mortalité inférieur en eau froide qu'en eau chaude [10 ;47]. Cette baisse de toxicité est imputable à une réduction de l'activité métabolique (réduction de l'ingestion et de l'activité enzymatique) observée lorsqu'un insecte est exposé à des températures s'approchant de la température minimale à laquelle on le retrouve normalement dans l'environnement. Il est à noter qu'à basses températures, certaines formulations démontrent un faible taux de mélange et de dispersion, ce qui réduit la disponibilité des cristaux de Bti.

**Intensité lumineuse** : généralement, une luminosité trop intense (ex. à midi, lorsque le soleil est au zénith dans un ciel sans nuage) réduit l'activité larvicide des cristaux de Bti [11; 10]. L'intensité lumineuse est un facteur affectant le comportement larvaire.

**Densité larvaire** : pour obtenir la même mortalité (ex. 90 % de la population), une quantité plus élevée de cristaux de Bti est nécessaire lorsque le nombre de larves par unité de volume est élevé. Habituellement, pour obtenir le même taux de mortalité, une mare contenant une densité larvaire élevée (50 -100 larves par litre) devra être traitée avec 1,5 à 2 fois plus de produit qu'une mare contenant une faible densité larvaire (5-20 larves par litre) [46; 12; 2; 47]. La présence élevée d'invertébrés se nourrissant également de particules en suspension (ex. certains crustacés et mollusques) peut aussi induire le même effet [10]. Dans la pratique, les dosages sont déterminés en fonction de la surface à traiter et non de la densité larvaire. On assume donc toujours une densité maximale de larves présentes dans le milieu à traiter.

**Présence de particules et de pollution organique** : généralement, plus l'habitat contient de la matière organique et des matières colloïdales (petites particules de « gelée » provenant de l'agglutination de produits dissous) en suspension, plus la quantité de cristaux de Bti doit être élevée pour le même taux de mortalité [56; 40]. L'adsorption des cristaux sur des particules, suivie d'une précipitation lente, diminue la disponibilité des cristaux de Bti. De plus, les larves exposées à des concentrations élevées de particules « nutritives » peuvent démontrer des taux d'ingestion réduits, ce qui suggère qu'elles auraient atteint le taux de satiété — elles seraient rassasiées [45]; par conséquent, les larves vont ingérer moins de cristaux causant ainsi une diminution de la mortalité.



**Présence de pollution non organique** : la présence d'une concentration élevée en chlore et en fer semble réduire l'activité toxique des cristaux de Bti [55; 15]. La présence de pollution organique réduit aussi l'activité toxique [10].

**Profondeur de l'eau** : habituellement, à superficie égale, plus une mare est profonde, plus la quantité de cristaux de Bti doit être élevée pour induire le même taux de mortalité. Puisque les larves de plusieurs espèces de moustiques se nourrissent près de la surface, l'efficacité des différentes formulations est influencée par la disponibilité des cristaux de Bti dans les premiers 10 cm de la surface d'une colonne d'eau [10].

**Présence de courants** : dans une mare, la présence d'un apport d'eau substantiel diminue la disponibilité des cristaux de Bti en induisant une dilution (réduction du nombre de cristaux par volume d'eau) et en déplaçant la masse d'insecticide hors de la zone traitée.

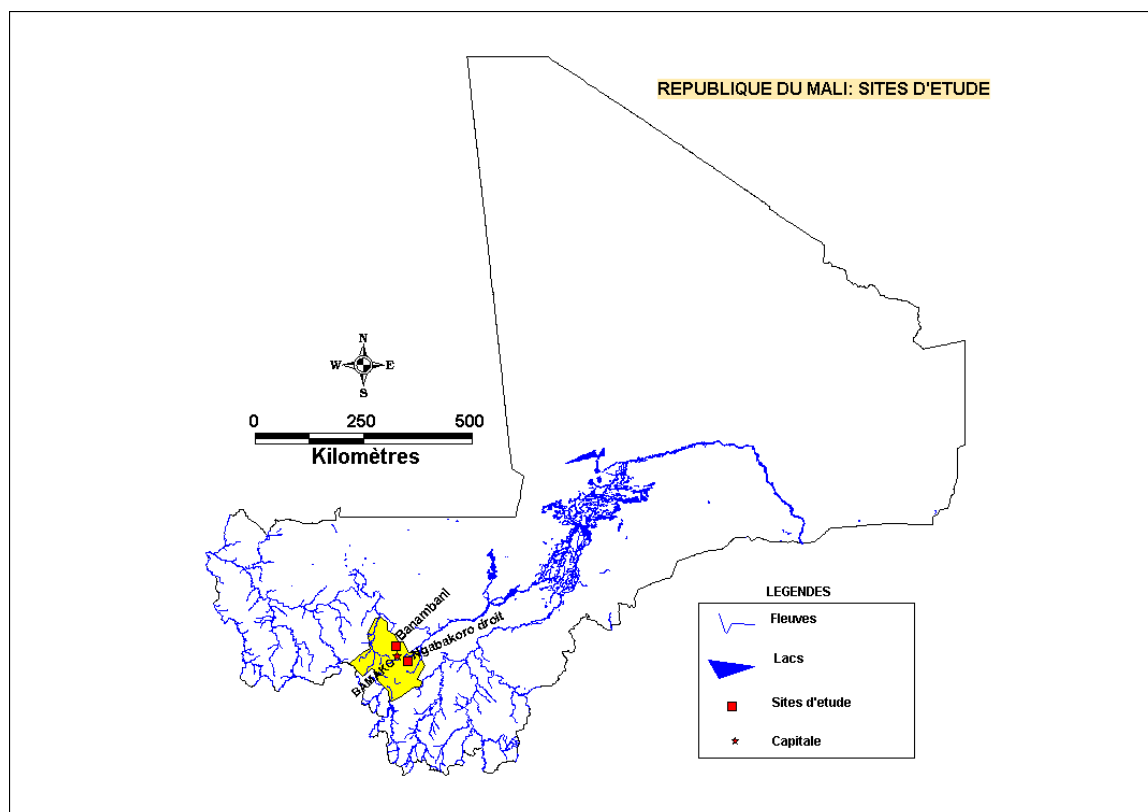
**Couvert végétal :**

La présence de végétation en périphérie et au-dessus d'une mare peut intercepter les formulations de types liquides pulvérisées, poudres ou granules lors de leur application, ce qui réduit la disponibilité des cristaux de Bti. Concrètement, il existe des formulations de granulés variables pour faire face aux différents types de couvert végétal.

## 4. METHODOLOGIE :

### 4.1. Site d’étude :

Nous avons choisi deux villages dans le cercle de Kati pour la réalisation de cette étude. Un village test (Banambani) et un village témoin (N’Gabakoro droit).



*Source: Unité Epidemiology/GIS/RS du MRTC – Entomologie. Juin 2009*

**Figure 4 :** Carte du Mali indiquant les sites d’étude

#### **4.1.1. Banambani :**

Le village de Banambani est situé dans la commune de Kati. Il est à 7 kilomètres au Nord-est de cette localité. Ses coordonnées sont les suivantes : 12° 48' latitude Nord et à 8 03' longitude Ouest. Le village a environ 700 habitants et 250 logements [25].

##### **► Relief :**

Il est constitué essentiellement par des prolongements du plateau Mandingue : Banambakoulou et Koulouniblé. Les terrains d'exploitation agricole sont des plaines sablo argileuses. Sur ces plaines existent quelques dépressions où coulent des rivières temporaires. Dans le lit des cours d'eau la cuirasse latéritique est entaillée de trous de roche qui constituent d'excellents gîtes larvaires pour *Anophéles gambiae*.

##### **► Hydrographie :**

Le Dabani qui arrose le village provient des escarpements latéritiques du Koulouniblé. Pendant la saison pluvieuse, il est grossi des eaux d'une multitude de ruisseaux coulant des collines vers la vallée, formant ainsi des marécages en Septembre-Octobre. Pendant la saison sèche, tous les ruisseaux et poches d'eau s'assèchent laissant le Dabani seul.

##### **► Climat :**

Le climat est de type Nord Soudanien : la saison sèche s'étend de novembre à avril, alternant avec une saison des pluies qui dure de mai à octobre avec un maximum de pluies en août.

##### **► Végétation :**

La végétation est une savane arborée typique du climat soudanien. On distingue :

- une strate herbacée surtout abondante en saison pluvieuse et composée essentiellement des espèces suivantes : *Andropogon sp*, *Pennisetum pedicellatum*, *Cymbopogon giganteus*, *Cochlospermum tinctorium*, *Vernonia sp*, *Diheteropogon hagerupii*, *Loudetia sp*

- une strate arbustive composée essentiellement de :  
*Terminalia macroptera*, *Syzygium guineense variété macrocarpa*, *Combretum velutinum.*, *Saba senegalensis* (Zaban)
- une strate arborée en voie de dégradation à cause du défrichement du aux cultures et surtout aux coupes incontrôlées du bois de chauffage.  
L'arbre le plus commun est le Karité *Vitellaria paradoxa*.

► **Habitat, Peuplement humain et activités économiques :**

Les constructions, en banco, sont regroupées en concessions isolées et sans clôture. A côté des habitations humaines existent des enclos de branchages servant de bergerie, de petits enclos pour les porcs et la volaille.

La Mosquée, la maternité, l'école fondamentale, l'Eglise catholique et la coopérative agricole représentent les édifices publics.

La population de Banambani évaluée environ à 700 habitants et 250 logements [25] se compose de Bambara (Niaré, Diarra, Coulibaly et Traoré) majoritaires qui sont les autochtones et de Malinkés (Keita). La chefferie est assurée par les Niarés qui sont les fondateurs du village. Ils sont aussi appelés les Niakatés.

Les activités économiques sont essentiellement basées sur l'agriculture, l'élevage n'intervient qu'en second plan. Les cultures sont : le riz, mil, maïs, sorgho, arachide, haricot, patates, ignames, manioc, pomme de terre, tomate, oignon, gombo, aubergine. Les cultures fruitières sont essentiellement des manguiers greffés et les bananiers.

Les produits de cueillette sont les noix de karité, les fruits de Néré, de Tamarinier et du Zaban.

L'élevage constitue une activité secondaire : on élève des bovins, caprins, ovins, porcins, volailles.

Les religions pratiquées sont : l'Animisme en grande majorité, l'Islam et le Christianisme.

### ► La Faune :

Les vertébrés sont représentés par les lièvres, les écureuils et les serpents avec les espèces comme *Naja nigricolis*, *Naja katiensis*, *Echis carinatus*, *Bitis arietans*.

On rencontre également plusieurs espèces d'oiseaux.

La faune entomologique comporte certains insectes d'importance médicale.

Parmi ces insectes on peut citer :

- les *Culicidae* : avec les genres *Anophèles*, *Culex*, *Aédes*.
- les *Ceratopogonidae* : *Culicoides sp*
- les *Psychodidae* : Phlébotomes
- les *Tabanidae* : Taons

#### 4.1.2. N'Gabakoro-Droit :

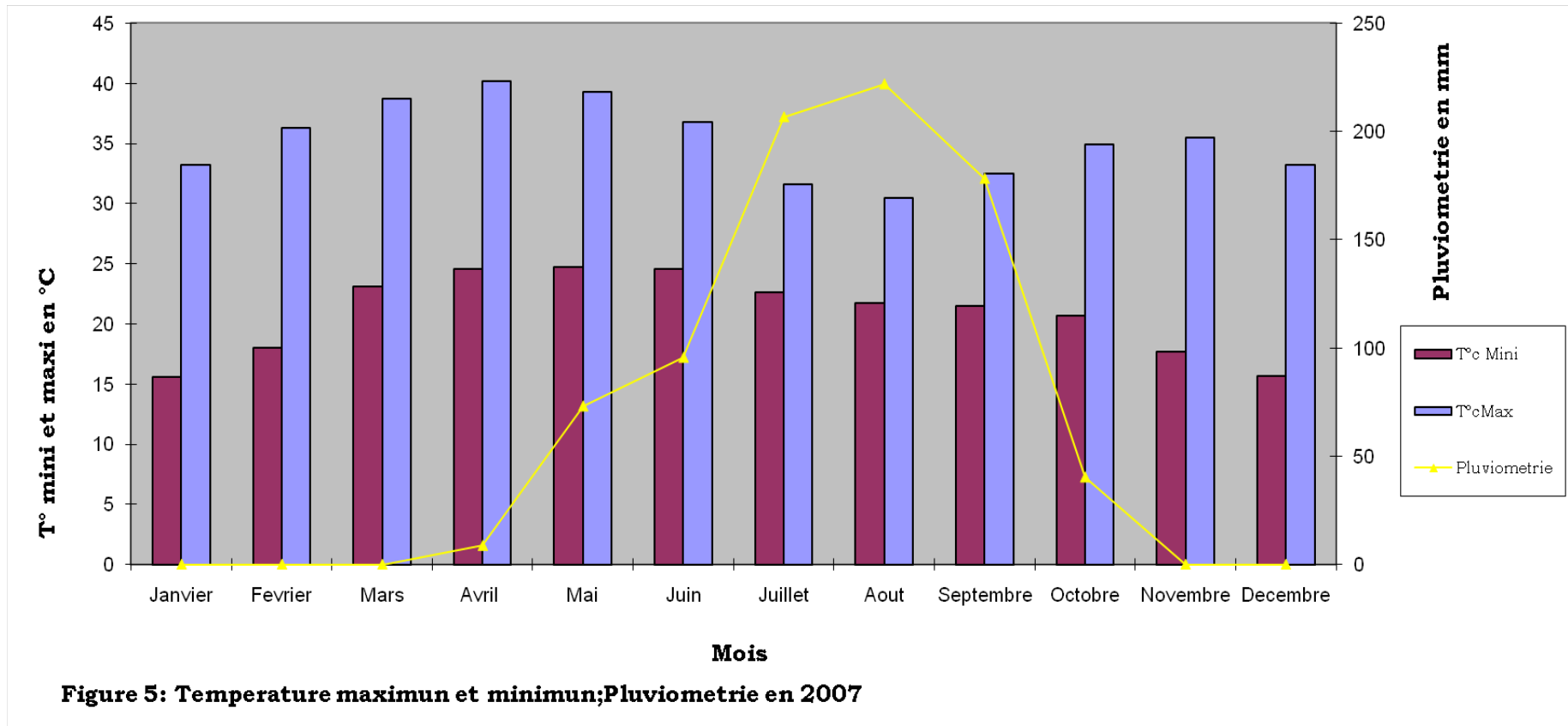
N'gabakoro droit est situé à 18 kilomètres à l'Est de Bamako dans la région Nord de la savane Soudanienne, ses coordonnées sont : 12°43' latitude Nord et 7°01' longitude Ouest. Le village est situé près d'une colline à 0.800 kilomètre du bord du fleuve Niger et est croisé par un jet provisoire. Les gîtes de reproduction des moustiques sont en majorité constitués de dépressions peu profondes ou des bassins sur la surface de latérite répandue sur les rives et remplies par l'eau de pluie et l'inondation de fleuve, dans les champs de riz, des excavations et des étangs. Les bassins résiduels sont communs dans le lit du fleuve Niger pendant la saison sèche.

La population s'élève à environ 5484 habitats dans la commune dont 2440 habitants dans le village de N'Gabakoro droit [25]. Les principales activités pratiquées sont : la culture du riz, du mil, du maïs, de haricots de la patate, etc....

Les édifices publics sont la mairie, l'école fondamentale, les Mosquées l'Eglise catholique et la maison des jeunes.

**Tableau 2** : Relevés climatologiques à Bamako en 2007 (source : Direction Nationale de la Météorologie)

Mois	Température minimum (°C)	Température maximum (°C)	Pluviométrie (mm)
Janvier	15,6	33,2	0,0
Février	18,0	36,3	0,0
Mars	23,1	38,7	0,0
Avril	24,6	40,2	8,7
Mai	24,7	39,3	73,1
Juin	24,6	36,8	95,6
Juillet	22,6	31,6	206,6
Aout	21,7	30,5	221,8
Septembre	21,5	32,3	178,2
Octobre	20,7	34,9	40,3
Novembre	17,7	35,5	0,0
Décembre	15,7	33,2	0,0



**Tableau 3 :** Relevés climatologiques à Bamako en 2008 (source : Direction Nationale de la Météorologie)

Mois	Température minimum (°C)	Température maximum (°C)	Pluviométrie (mm)
Janvier	14,8	30,4	0,0
Février	18,6	36,6	0,0
Mars	21,7	38,7	8,3
Avril	23,3	39,1	45,1
Mai	24,8	38,3	77,0
Juin	23,0	35,4	110,3
Juillet	21,7	31,1	289,0
Aout	21,7	30,7	374,7
Septembre	21,8	32,3	147,9
Octobre	21,4	33,8	152,8
Novembre	15,0	35,4	0,0
Décembre	15,6	33,0	0,0



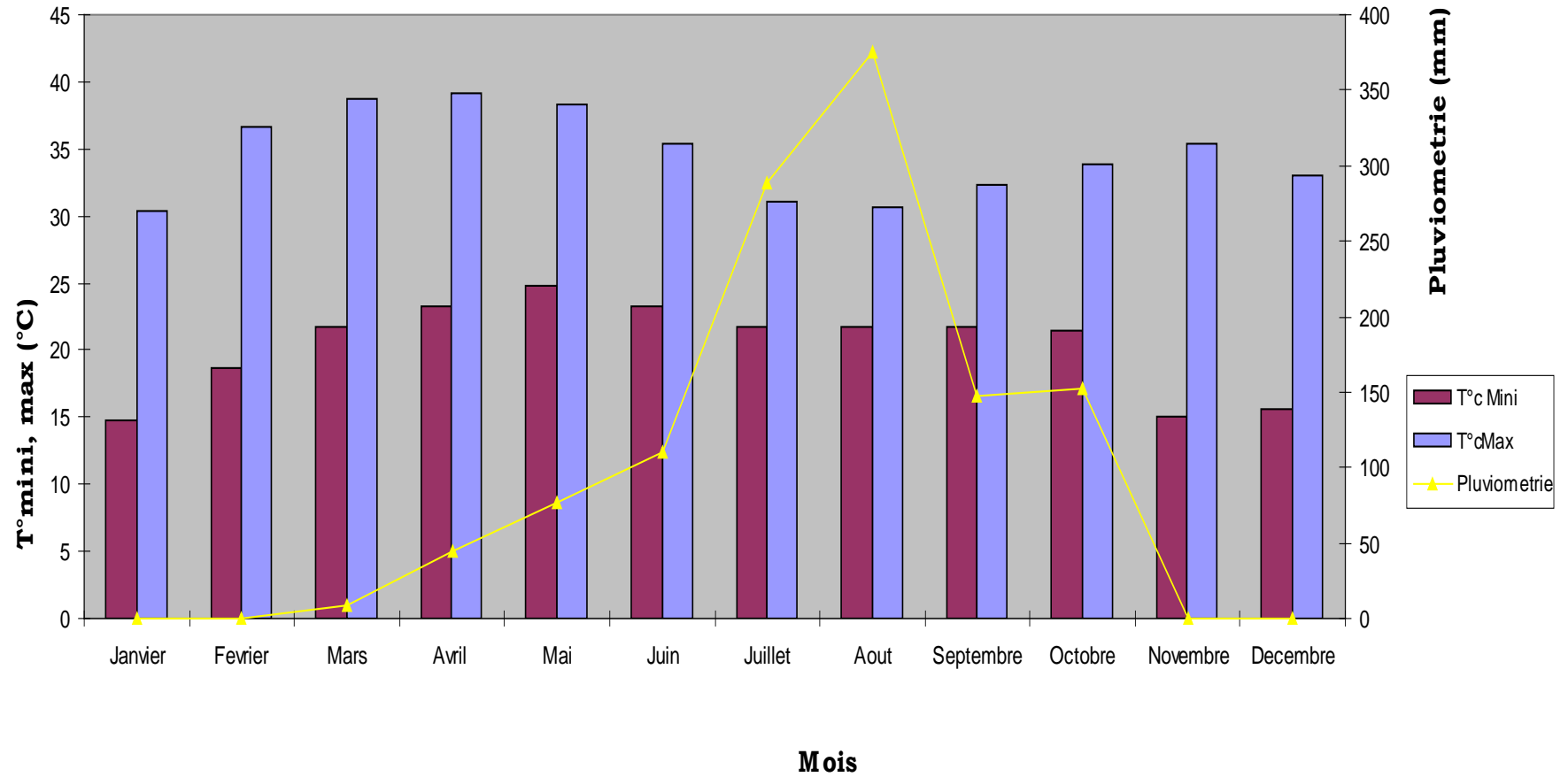


Figure 6: Temperature minimum, temperature Maximum et Pluviometrie en 2008

## **4.2. Période et type d'étude :**

Elle s'est déroulée d'août 2007 à novembre 2008 répartie comme suite:

-août 2007-15 février 2008 : géo-positionnement des gîtes larvaires et contrôle de la densité dans les deux sites.

-15 février – 15 mai 2008 (saison sèche) c'était le traitement initial à Banambani avec comme site de contrôle N'Gabakoro droit,

-15 mai – 15 novembre (saison des pluies) : correspond à la période d'intensification des activités avec traitement, évaluation et recensement de nouveaux gîtes.

## **4.3. Matériels et Méthodes :**

### **4.3.1. Collecte des données :**

#### **4.3.1.1. Etudes des gîtes larvaires:**

##### **► Identification et geo-positionnement des gîtes larvaires**

Au début de cette étude, avec l'aide des guides locaux, nous avons recherché et géo positionné (avec le *tryble Geo Explorer 3*) tous les gîtes larvaires situés à l'intérieur et autour des 2 villages (4 km autour des 2 villages) Une carte de base a donc été produite après le premier passage et elle était actualisée à chaque passage.

##### **► Suivis et prospections des gîtes larvaires**

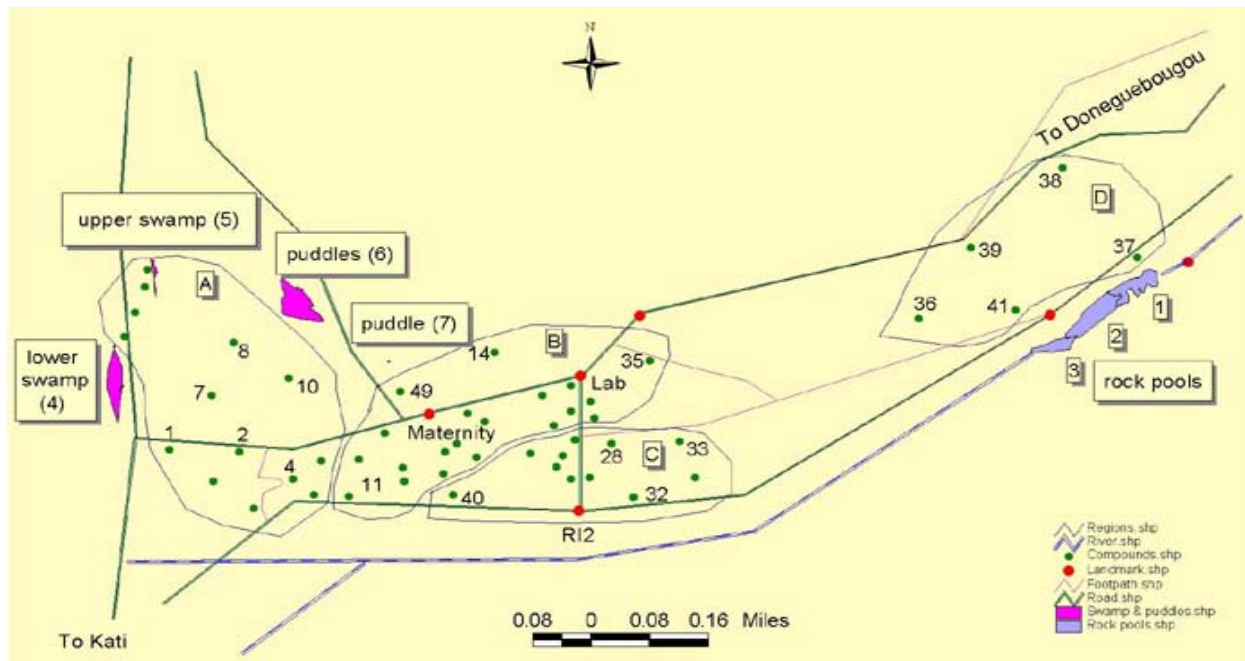
A chaque passage, les nouveaux gîtes étaient aussi géo positionnés ajoutés à la base de données. Pour cela nous bénéficions à chaque fois de l'aide des habitants.

A chaque gîte était attribué un numéro d'identification en fonction de sa localisation dans le village, du type de gîte et de l'ordre de repérage. Ceci permettait de retrouver toujours les informations les concernant de façon rapide.

##### **► Collecte des données sur les gîtes**

Il s'agit d'une étude longitudinale à passage transversaux, Et à chaque passage on déterminait la présence ou l'absence de larves d'anophèles;

NB : Pour des problèmes techniques nous n'avons pas établi une carte des gîtes larvaires pour N'Gabakoro-Droit mais cela ne joue pas sur notre système d'analyse des données car les gîtes n'ont pas été traités dans ce village.



**Figure 7 :** Cartographie des gîtes larvaires à Banambani.

#### 4.3.1.2. Etude de la densité larvaire :

La collecte des larves de moustique était faite par des louchées à chaque semaine dans les deux villages à l'intérieur et à l'extérieur à 4 km avant et 48h après le traitement. Le dipping (louchée) était 10 louchées par gîte.

La surveillance continue des sources larvaires était conduite par semaine conformément au protocole pour assurer l'efficacité des traitements.

#### 4.3.1.3. Etude de la densité des moustiques adultes :

Nous avons choisi aléatoirement 20 cases par site et par mois pour la collecte des moustiques adultes en utilisant la technique de spray catch.

Les femelles étaient notées en fonction de l'espèce et des différents stades de réplétion pour déterminer les paramètres entomologiques comme la densité, le taux d'agressivité et le TIE par ELISA au laboratoire du MRTC (Malaria Research and Training Center). L'identification des espèces d'*An. gambiae*

s.l. était faite par la PCR : Polymérase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne).

#### **4.3. 2. Traitement des gîtes larvaires :**

*Bacillus sphaericus* (Vectolex WDG) et *Bacillus thuringiensis israelensis* ont été utilisés.

Les doses optimales ont été déterminées ainsi que le calibrage des appareils avant le début des activités [26].

##### **4.3. 2.1. Saison sèche** (février – mai) :

Tous les gîtes potentiels, ont été pulvérisés avec vectolex WDG à 700 -800 grammes par hectare en utilisant la méthode de jet décrite ci-dessous.

Tous les gîtes étaient codés et établis sur la fiche de base de données.

##### **4.3. 2.2. Saison des pluies** (mai –novembre) :

Pendant la saison des pluies, nous avons intensifié les activités avec le traitement hebdomadaire par vectoBac WDG à 350-400 grammes par hectare compte tenu de l'abondance des pluies et la présence de nombreux gîtes larvaires. La méthode appliquée est la même utilisée pour le vectoLex WDG sauf vectoBac sera appliqué en moyenne de 375 grammes par hectare, exigeant deux godets (pots) de 100 ml remplis de produits.

#### **4.3.3. Matériel**

##### **OSATU star 16 Agro :**

##### **\*Description :**

- Capacité utile: 16 L
- Chambre de pression excentrique avec tube d'aspiration intégré.
- Poignée ergonomique, démontable manuellement et équipée de joints en viton.

- Renfort intérieur du réservoir grâce à une nervure qui relie les parois.
- Poignée de transport et courroies résistantes, imputrescibles et ajustables.
- Lance métallique en laiton chromé.
- Livré avec buse herbicide et deux renforts (un en caoutchouc et un autre synthétique) avec deux unités configurées (baluchon) en haut avec un bec et baguette magique ;



Source : [www.callivoire.com/Materiel/pulverisateur](http://www.callivoire.com/Materiel/pulverisateur)

**Figure 8** : OSATU star 16 Agro

**- Mélange de jet :**

\*VectoLex WDG : un pot de 100 ml à remplir 4 fois (160g) dans 10L d'eau.

\*VectoBac WDG : un pot de 100 ml rempli de VectoBac à mettre 2 fois (80g) dans 10 l d'eau.

**- Procédure de traitement**

- ❖ Mettre d'abord 5 L d'eau au baluchon, puis ajouter le WDG,
- ❖ Secouer bien, et ajouter l'eau restante (5 autres litres pour compléter à 10 l),
- ❖ secouer encore pour rendre homogène le mélange.

- ❖ La baguette magique et la pompe doivent également être purgées (pulvérisé en arrière dans le réservoir) pour s'assurer que le matériel mélangé vient du pulvérisateur,
- ❖ Enfin commencer immédiatement la pulvérisation de l'espace à traiter.

- **Vitesse de marche** : Elle est la même dans les deux cas approximativement 60m/mn.

- **Epannage** : 5 m dans les deux cas.

- **Modèle de jet** : les opérateurs de jet balancent la baguette magique en avant et en arrière rapidement pour faire une pulvérisation égale au dessus de 2 fois la largeur en excédant un épandage de la surface entière cible.

- **Taux de jet** :

Il est approximativement 47 Litres /hectare qui étaient appliqués avec cette méthode ayant pour résultat approximativement 750 grammes par traitement d'hectare de VectoLex WDG et pour VectoBac WDG approximativement 375 grammes par traitement d'hectare.

- **la fréquence de traitement** :

\* **VectoLex WDG** : il est répété deux fois en avril et une fois au début de mai en utilisant un retraitement à deux semaines d'intervalle.

\* **VectoBac WDG** : En saison pluvieuse le VectoBac WDG a été utilisé par semaine répété le 15 Mai en continuant jusqu'au 15 Novembre puis un retraitement d'une semaine d'intervalle.

#### **4.4. Collecte et analyse des données :**

Sur le terrain les données ont été collectées à l'aide de fiches de collectes élaborées à cet effet pour chaque technique de collecte. Ces fiches ont été gardées dans une caisse fermée à clé avant la saisie et l'analyse.

Les données ont été saisies sur Excel et analysées sur SPSS12.0

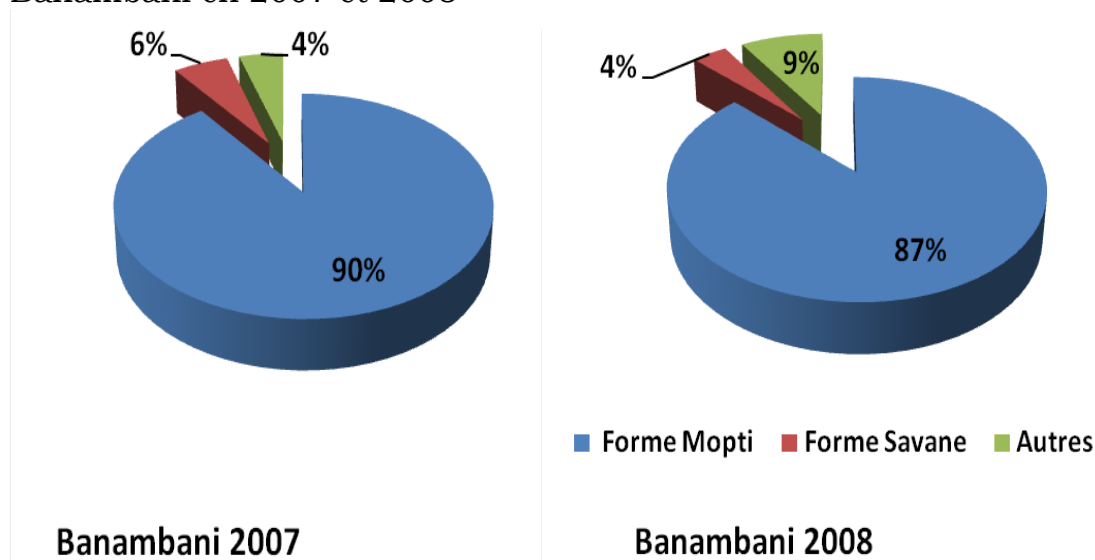
#### **4.5. Considérations Ethiques :**

L'avis de la communauté à propos de la mise en œuvre de la phase opérationnelle de la lutte contre les larves de moustiques a été requis à travers des réunions communautaires convoquées par le chef traditionnel. Pour la collecte des adultes et/ou le monitoring et la lutte contre les gîtes larvaires, l'avis individuel a été requis auprès de tous les foyers où l'accès était nécessaire. Ainsi le protocole de recherche a été présenté au comité d'éthique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) de l'université de Bamako, qui a donné son approbation.

## 5. Résultats

### 5-1 Population des vecteurs: composition du complexe *Anophèles gambiae*

#### 5-1-1 Fréquence relative des formes moléculaires d'*Anophèles gambiae s.l.* à Banambani en 2007 et 2008



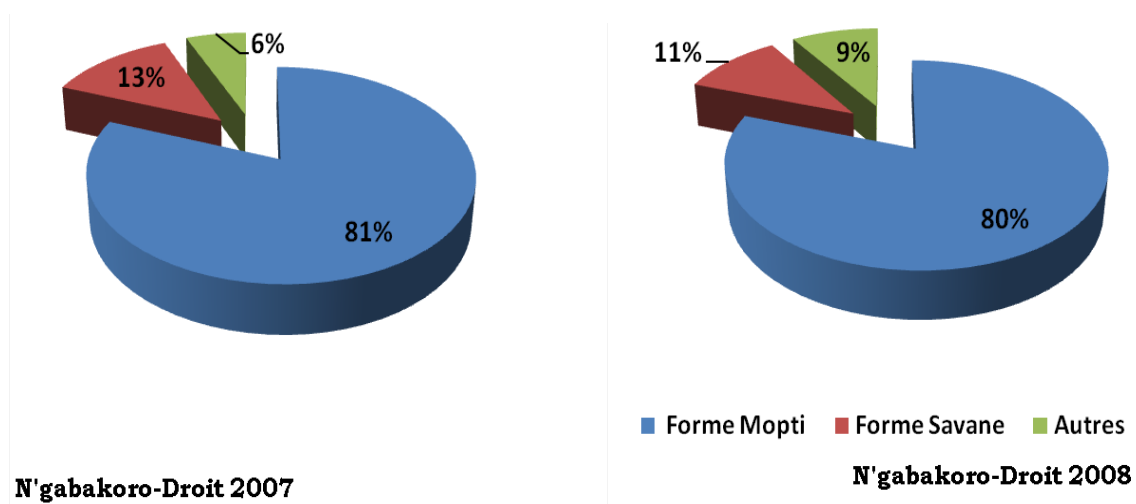
**NB : la légende est valable pour les 2 années**

**Figure 9 :** Fréquence relative des formes moléculaires d'*Anophèles gambiae s.l.* à Banambani en 2007 et 2008

La figure 9 montre qu'à Banambani la forme M est l'espèce prédominante en 2007 et en 2008. La forme S et les hybrides ont été observés à des proportions semblables.



**5.1.2** : Fréquence relative des formes moléculaires d'*Anophéles gambiae s.l.* à N'Gabakoro-droit en 2007 et 2008



**Figure 10** : Fréquence relative des formes moléculaires d'*Anophéles gambiae s.l.* à N'Gabakoro-droit en 2007 et 2008

Tout comme à Banambani La fig10 montre aussi une prédominance de la forme Mopti à N'Gabakoro pour les deux années.

## 5.2 Densité par case des adultes d'*An. gambiae s.l*

La densité mensuelle a été obtenue en multipliant la densité journalière par 30 pour chaque mois.

**Tableau 4** : Densité mensuelle moyenne (nombre de moustiques par case et par mois) pour *An. gambiae s.l.* à Banambani et à N'Gaboro-Droit (à partir des séances de spray catches) en 2007

Localités	Banambani			N'Gaboro-Droit		
	Nb.			Nb.		
Mois	cases	Nb.	Densité/c/m	cases	Nb.	Densité/c/m
Juin	20	289	<b>433,50</b>	20	66	84,00
Juillet	20	110	165,00	20	75	112,50
Août	20	232	348,00	20	181	<b>271,50</b>
Septembre	20	163	244,50	20	107	160,50
Octobre	20	180	270,00	20	177	265,50
Novembre	20	57	85,50	20	49	73,50
Total/moy	120	1031	<b>257,70</b>	120	655	<b>163,80</b>

*Nb.* : nombre      *c* : case      *m* : mois

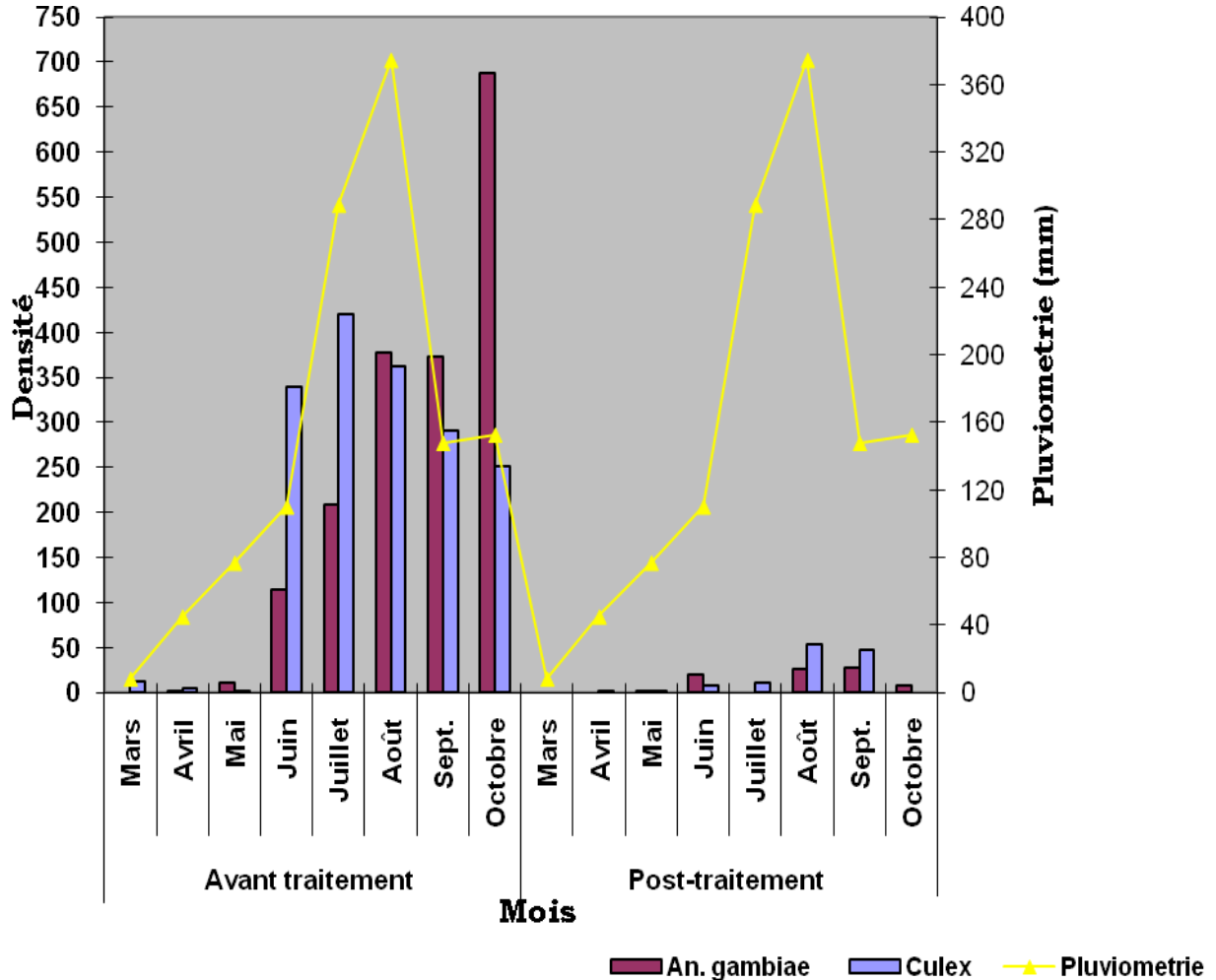
La densité moyenne par case à Banambani était de 257,70 moustiques/case/mois contre 163,80 à N'Gaboro-Droit. La densité la plus élevée a été obtenue durant le mois de juin à Banambani (433,50 moustiques/case/mois) et au mois d'août à N'Gaboro-Droit (271,50 moustiques/case/mois).

**Tableau 5** : Densité mensuelle moyenne (nombre de moustiques par case et par mois) pour *An. gambiae s.l.* à Banambani et à N’Gabakoro-Droit (à partir des séances de spray catches) en 2008

<i>Localités</i>	<b>Banambani</b>			<b>N’Gabakoro-Droit</b>		
	<i>Nb. cases</i>	<i>Nb.</i>	<i>densité/c/m</i>	<i>Nb. cases</i>	<i>Nb.</i>	<i>Densité/c/m</i>
<i>Juin</i>	20	9	6,9	20	17	25,5
<i>Juillet</i>	20	21	31,5	20	32	48,0
<i>Août</i>	20	14	21,0	20	85	127,5
<i>Septembre</i>	20	35	52,5	20	47	70,0
<i>Octobre</i>	20	125	<b>187,5</b>	20	178	<b>267,0</b>
<i>Total/moy</i>	100	204	<b>61,2</b>	100	359	<b>107,7</b>

La densité moyenne par case à Banambani était de 61,2 moustiques/case/mois contre 107,7 à N’Gabakoro-Droit. La densité la plus élevée a été obtenue durant le mois d’octobre (187,5 moustiques/case/mois pour Banambani et 267,0 pour N’Gabakoro-Droit).

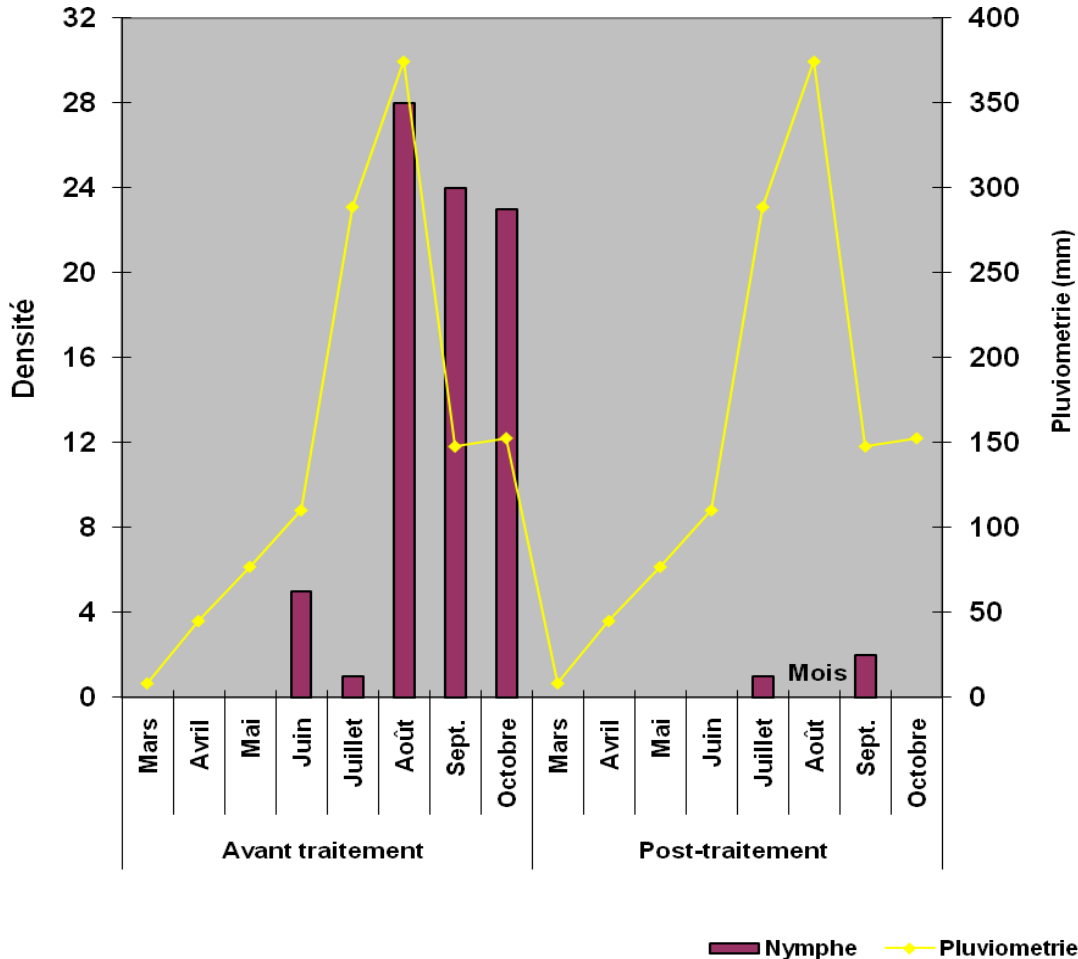
### 5.3 Densité larvaire d'*An. gambiae s.l* (Effet de Bti 2008)



**Figure 11:** Fréquence de la densité larvaire d'*An. gambiae* et culex avant et post traitement à Banambani en fonction de la pluviométrie

A chaque mois, nous observons une diminution nette de la densité larvaire après traitement au Bti à Banambani.

#### 5.4 Densité des nymphes d'*An. gambiae s.l* (Effet de Bti 2008)



**Figure 12:** Fréquence de la densité des nymphes avant et post traitement à Banambani en fonction de la pluviométrie

L'analyse de ce graphe révèle que le mois d'août, septembre et octobre ont enregistré le plus grand nombre de nymphes avant l'application du produit et on note une faible quantité de nymphes qu'en juillet et septembre après le traitement.

## 5.5 Taux d’agressivité d’*An. gambiae s.l*

Le taux d’agressivité mensuel d’*An. gambiae s.l* a été obtenu en multipliant le taux d’agressivité journalier par 30 pour chaque mois.

**Tableau 6**: Le taux d’agressivité mensuel (nombre de piqûre reçu par homme et par mois) pour *An. gambiae s.l.* à Banambani et N’Gabakoro-Droit (à partir des séances de spray catches) en 2007.

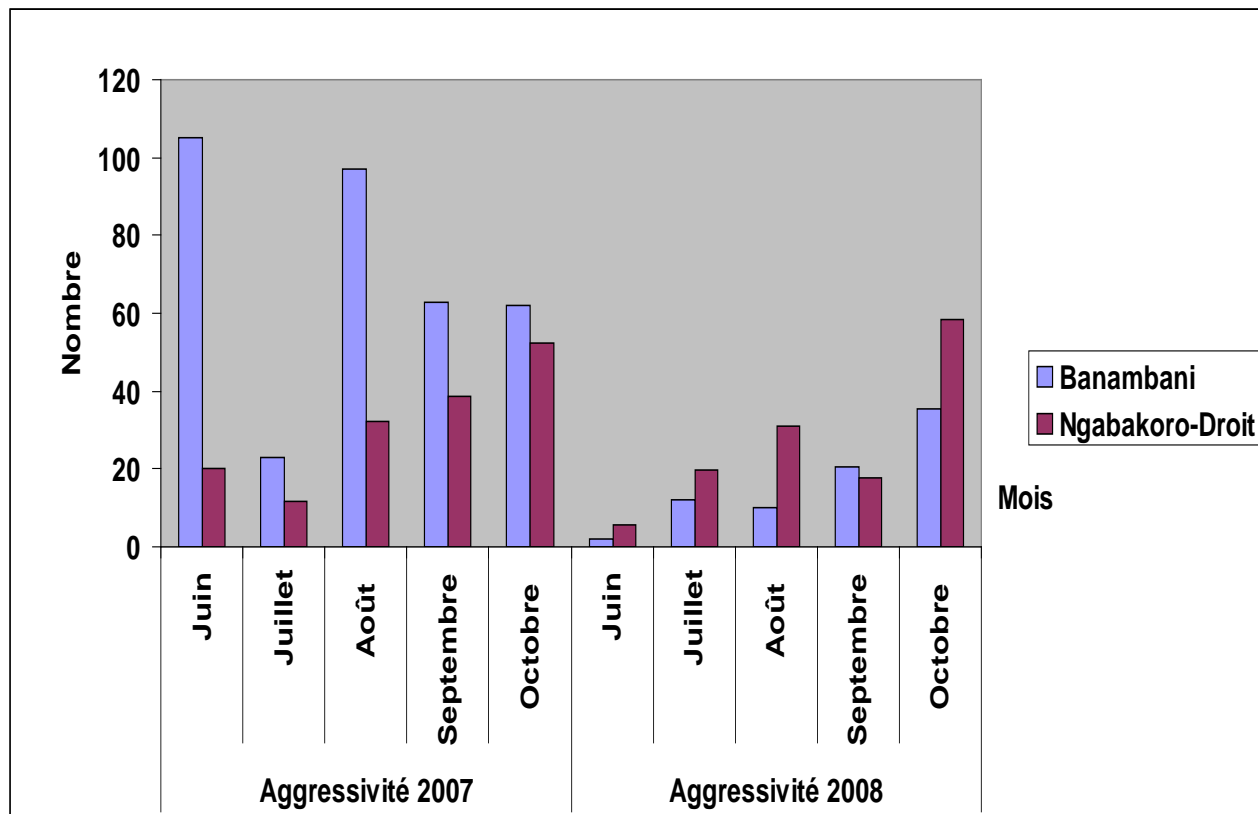
Localités	Banambani			N’Gabakoro-Droit		
	Nbre dormeurs	Nbre	piq/h/m	Nbre Dormeurs	Nbre	piq/h/m
Juin	55	193	105,30	58	39	20,10
Juillet	58	44	22,80	57	22	11,70
Août	44	142	<b>96,90</b>	49	53	32,40
Septembre	50	105	63,00	49	63	38,70
Octobre	55	114	62,10	64	112	<b>52,50</b>
Novembre	57	46	24,30	52	38	21,90
Total/moy.	319	644	<b>60,60</b>	329	300	<b>27,30</b>

Le taux mensuel moyen d’agressivité à Banambani était de 60,60 piqûres/homme/mois contre 27,30 à N’Gabakoro-Droit. Les taux les plus élevés ont été observés durant le mois d’août à Banambani (96,90 piqûres/homme/mois) et mois d’octobre à N’Gabakoro-Droit( 52,50 piqûres/homme/mois).

**Tableau 7 :** Le taux d'agressivité mensuel (nombre de piqûre reçu par homme et par mois) pour *An. gambiae s.l.* à Banambani et N'Gaboro-Droit (à partir des séances de spray catches) en 2008.

Localités	<b>Banambani</b>			<b>N'Gaboro-Droit</b>		
	Nbre dormeurs	Nbre	piq/h/m	Nbre dormeurs	Nbre	piq/h/m
Mois						
Juin	91	6	1,98	48	9	5,63
Juillet	50	20	12,00	46	30	19,57
Août	39	13	9,99	61	63	30,98
Septembre	44	30	20,45	47	28	17,87
Octobre	54	64	<b>35,56</b>	58	113	<b>58,45</b>
Total/moy	278	133	<b>14,35</b>	260	243	<b>28,04</b>

Le taux mensuel moyen d'agressivité à Banambani était de 14,35 piqûres/homme/mois contre 28,04 à N'Gaboro-Droit. Les taux les plus élevés ont été observés durant le mois d'octobre (35,56 piqûres/homme/mois pour Banambani et 58,45 pour N'Gaboro-Droit).



**Figure 13 :** Taux mensuels moyens d'agressivité comparant de Banambani et N'Gbakoro-Droit en 2007 et 2008

Ce graphe montre une diminution des taux d'agressivité à Banambani après le traitement au Bti comparativement au village témoin. Le taux le plus élevé a été observé au mois de septembre et octobre.



## 5.6 Taux d'indice d'antigène sporozoitique (IAS)

**Tableau 8:** Variations mensuelles de taux d'infection pour *An. gambiae s.l.* à Banambani et N'Gbakoro-Droit en 2007

Localités	Banambani			N'Gbakoro-Droit		
	Total	Positifs	IAS (%)	Total	Positifs	IAS (%)
Juin	75	2	2,67	66	1	1,52
Juillet	75	3	4,00	75	2	2,67
Août	75	5	6,67	75	1	1,33
Septembre	75	11	14,70	75	6	9,33
Octobre	75	15	20,00	75	9	12,00
Novembre	57	4	7,02	49	2	4,08
Total	432	40	<b>9,26</b>	415	21	<b>5,06</b>

Le taux d'infection moyen pour *An. gambiae s.l.* à Banambani était de 9,26% (n=432) contre 5,20 % (n=415) à N'Gbakoro-Droit.

**Tableau 9:** Variations mensuelles de taux d'infection pour *An. gambiae s.l.* à Banambani et N'Gbakoro-Droit en 2008

Localités	Banambani			N'Gbakoro-Droit		
	Total	Positifs	IAS (%)	Total	Positifs	IAS (%)
Juin	9	0	0,00	17	0	0,00
Juillet	21	1	4,76	32	2	6,25
Août	14	1	7,14	85	3	3,53
Septembre	35	2	5,71	47	2	4,25
Octobre	50	4	8,00	75	6	8,00
Total	129	8	<b>6,20</b>	256	13	<b>5,08</b>

Le taux d'infection moyen pour *An. gambiae s.l.* à Banambani était de 6,20% (n= 129) contre 5,08 % (n= 256) à N'Gbakoro-Droit.

## 5.7 Etude de la transmission du paludisme : taux d’inoculation entomologique :

**Tableau 10** : Variations mensuelles du taux d’inoculation entomologique à Banambani et N’Gabakoro-Droit en 2007

Localités	Banambani			N’Gabakoro-Droit		
	ma	IAS%	h	ma	IAS%	h
Mois						
Juin	105,30	2,67	2,81	20,10	1,52	0,31
Juillet	22,80	4,00	0,91	11,70	2,67	0,31
Août	96,90	6,67	6,46	32,40	1,33	0,43
Septembre	63,00	14,70	9,26	38,70	9,33	3,61
Octobre	62,10	20,00	12,42	52,50	12,00	6,30
Novembre	24,30	7,02	1,71	21,90	4,08	0,89
Total	60,60	9,26	<b>5,61</b>	27,30	5,06	<b>1,38</b>

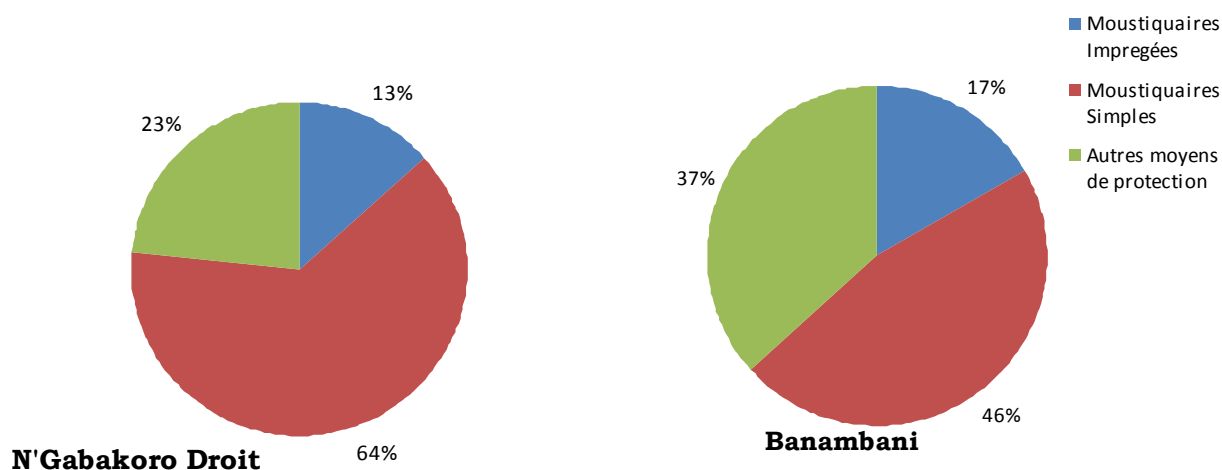
Le taux d’inoculation entomologique moyen pour *An. gambiae s.l.* à Banambani était de 5,61 piqûres infectantes /homme/ mois contre 1,38 piqûres infectantes /homme/ mois à N’Gabakoro-Droit

**Tableau 11** : Variations mensuelles du taux d’inoculation entomologique à Banambani et N’Gabakoro-Droit en 2008

Localités	Banambani			N’Gabakoro-Droit		
	ma	IAS%	h	ma	IAS%	h
Mois						
Juin	1,98	0,00	0,00	5,63	0,00	0,00
Juillet	12,00	4,76	0,57	19,57	6,25	1,22
Août	9,99	7,14	0,71	30,98	3,53	1,09
Septembre	20,45	5,71	1,17	17,87	4,25	0,76
Octobre	35,56	8,00	2,84	58,45	8,00	4,68
Total	14,35	6,20	<b>0,89</b>	28,04	5,08	<b>1,42</b>

Le taux d’inoculation entomologique moyen pour *An. gambiae s.l.* à Banambani était de 0,89 piqûres infectantes /homme/ mois contre 1,42 piqûres infectantes /homme/ mois à N’Gabakoro-Droit

## 5.8 Etude comparative des mesures de protection dans les deux villages



**Figure 14 :** Fréquence d'utilisation des moyens de protection dans les deux villages d'étude.

Les moustiquaires simples étaient les plus utilisées dans les deux villages suivis des autres moyens de protection comme les bombes insecticides, les serpentins etc....

Les moustiquaires imprégnées d'insecticides étaient utilisées à des proportions comparables entre N'gabakoro Droit et Banambani respectivement 13 % et 17 %

## 6. Discussion

### 6.1 Population des vecteurs :

La population des vecteurs du paludisme dans la zone rurale de Banambani et de N'Gabakoro Droit est essentiellement composée par les espèces du complexe *gambiae* avec la prédominance de la forme Mopti respectivement à 90,1% en 2007 ; 87,5% en 2008 et à 81,07% en 2007 ; 80,45% en 2008 comme le démontre nos résultats. La forme S et les hybrides ont été observés à des proportions comparables. En effet cette espèce est adaptée aux environnements secs [6] et occupe préférentiellement les gîtes de grande étendue.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Yaro A. *et al* en 2006.

### 6.2. Etude des densités d'*An. gambiae s.l*

Les fosses d'aisance, de flaques d'eau, les masses d'eau semi permanentes et permanentes étaient des habitats plus couramment disponibles et responsables de la prolifération vivace de larves d'anophèle dans la zone d'étude. Une étude similaire avait été faite par Fillinger *et al.* en 2004 ; Minakawa *et al.* en 2005.

La période de juin à octobre enregistre le plus grand nombre de larves et de nymphes lors de nos passages pour l'observation et le traitement ; ces résultats s'expliqueraient par le fait que les gîtes soient productifs en ces moments où on a une plus grande quantité de pluie.

Une baisse considérable de la densité larvaire après traitement des gîtes avec du Bti a été observée. Et on note une absence de pupes sauf aux mois de juillet et septembre où on enregistre une faible présence après la période d'observation et de traitement: la présence de pupes au cours de ces deux mois pourrait s'expliquer par la fréquence et la quantité élevée de pluies qui laverait les gîtes de reproduction.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés dans Malar J. en 2007 en Gambie qui notaient une réduction de 94% [IC = 95% 90.8-97.5%] du développement des pupes avec une semaine d'intervalle de traitement.

De même, l'utilisation de larvicides microbiens a entraîné la réduction de la densité mensuelle moyenne des moustiques adultes à Banambani (257.70 en 2007 à 61.2 en 2008) par contre elle est de 163.80 en 2007 et 107.7 en 2008 à N'Gabakoro qui est notre village témoin. Cette réduction aurait pu être considérable si nous avions songé une plus grande zone (au delà de 4km) car il est probable que les moustiques adultes puissent voler des secteurs non traités vers la zone d'étude [28; 35].

Des études similaires avaient été réalisées en Chine par Xu *et al.* 1992, au Pérou et en Equateur par Kroeger *et al.* 1995 qui trouvaient la réduction de 70% des densités d'*Anophèle*. Au Burkina Faso, Skovmand O, Sanogo E. ont aussi trouvé que l'utilisation du Bti a permis le contrôle de 60-97% du complexe *gambiae* pendant 10 jours dans les flaques d'eau de pluie.

### **6.3 Etude des paramètres entomologiques :**

Des séances de captures par la technique de spray catches ont permis d'évaluer le nombre de piqûre par homme et par mois, le taux d'indice d'antigène sporozoïtique (IAS) et les variations du taux d'inoculation entomologique qui ont passé respectivement dans le village testé de 60,60 piqûres par homme par mois en 2007 à 14,35 en 2008; 9,26% (n=432) en 2007 à 6,60% (129) en 2008; 5,61 piqûres infectantes par homme et par mois en 2007 à 0,89 en 2008 ; par contre, ces paramètres entomologiques ne varient pas d'une manière significative dans le village pris comme témoin. Cette diminution des paramètres entomologiques serait associée à la diminution dans la population adulte suite au traitement par le Bti des gîtes larvaires.

Cependant, nous avons seulement mené une étude qui a indiqué les résultats d'une enquête opérationnelle dans une zone rurale et l'espèce principale ciblée était *Anopheles gambiae s.l.*, Barbazan *et al.* 1997, 1998 au Cameroun, avaient mené une étude similaire ciblant les moustiques du genre *Culex*.

Cette étude est d'abord réalisée pour apporter notre contribution à l'évaluation de l'efficacité du Bti sur les larves de moustiques en Afrique

Subsaharienne qui démontre que l'abondance de vecteur du paludisme peut être réduite par un ordre de grandeur. En dépit de la longue histoire et des succès exceptionnels de cette méthode [34], l'utilisation des larvicides microbiens a été en grande partie négligée dans l'Afrique Subsaharienne ; en particulier à la suite de l'invention du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) pour réduire le paludisme.

Toute fois la collaboration de la population est nécessaire pour avoir l'accès à tous les gîtes de production.

## **7. Conclusion et recommandations :**

Au terme de cette étude nous avons évalué l'activité larvicide du Bti ; et ce larvicide microbien peut rigoureusement réduire l'exposition humaine aux vecteurs du paludisme;

Notre surveillance a démontré qu'*An. gambiae* a été largement distribuée sur une grande variété de types d'habitats avec une prédominance de la forme moléculaire M d'*An. gambiae* quelque soit l'année et la localité.

La diminution des paramètres entomologiques après traitement au Bti à Banambani comme le taux d'agressivité, taux d'indice d'antigène sporozoitique (IAS) taux d'inoculation entomologique comparativement au village témoin à permis de mettre en évidence l'efficacité du produit. L'efficacité a été examinée par l'optimisation des espèces d'*anophèles*.

Les moustiquaires simples étaient les plus utilisées comme des moyens de protection contre les moustiques par la population dans les deux zones d'études. Les moustiquaires imprégnées d'insecticides venaient en 3<sup>ème</sup> position.

De ces résultats, nous recommandons :

### **❖ Aux autorités politiques :**

- De financer et d'encourager de telles études qui pourront avoir une contribution de taille dans la lutte contre le paludisme,

### **❖ Au Programme National de Lutte contre le Paludisme PNLP :**

- De promouvoir l'utilisation du Bti,
- D'intensifier des activités de lutte anti larvaire en utilisant des produits à base de Bti,

### **❖ Aux chercheurs :**

- D'analyser la pertinence et l'innocuité du produit pour le traitement des gîtes larvaires,
- De continuer l'expérimentation de ce produit dans les zones endémiques du paludisme,



❖ **Aux Populations :**

- D'assainir leur milieu de vie pour réduire les gîtes larvaires pour les vecteurs.

Rapport-Gratuit.com

## 8. BIBLIOGRAPHIE

- 1. Ali, A. 1981.** *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* (ABG-6108) against chironomid midges and some nontarget invertebrates. *J Invertebr Pathol* 38:264–272. CrossRef, CSA
- 2. Aly, C., M. S. Mulla, B.-Z. Xu et W. Schnetter. 1988.** Rate of ingestion by mosquito larvae (Diptera: Culicidae) as a factor of the effectiveness of a bacterial stomach toxin. *Journal of Medical Entomology*. 25: 191-196.
- 3. Aly, C. et M. S. Mulla. 1986.** Orientation and ingestion rates of larval *Anopheles albimanus* in response to floating particles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 42: 83-90.
- 4. Aly, C. et M. S. Mulla. 1987.** Effect of two microbial insecticides on aquatic predators of mosquito. *Journal of Applied Entomology*. 103, 113-118.
- 5. Bah Sékou (1998).** Sensibilité d'*Anopheles gambiae s.l.* aux insecticides organiques de synthèse et divers extraits de plantes médicinales du Mali. Thèse pharmacie. *Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, pp.90.*
- 6. Baldet T, Diabaté A, Guiguemdé TR** [*Malaria transmission in 1999 in the rice field area of the Kou Valley (Bama), (Burkina Faso)*]
- 7. Barbouche N., Hajjem B., Lognay G., Ammar M., (2001).** Contribution a l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Herit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5 (2), p. 85-90. Georghiou G. P., Ariaratnam V., Pasternak M. E., Lin C. S., (1975). Organophosphorus multiresistance in

*Culex quinquefasciatus* in California. J. Econ. Entomol. 1975 Aug; 68(4):4617.

**8. Barbazan P, Baldet T, Darriet F, Escaffre H, Djoda DH & Hougard**

**JM (1997)** Control of *Culex quinquefasciatus* (Diptera:

Culicidae) with *Bacillus sphaericus* in Maroua, Cameroon.

Journal of the American Mosquito Control Association 13, 263–269.

**9. Barbazan P, Baldet T, Darriet F, Escaffre H, Djoda DH & Hougard JM**

**(1998)** Impact of treatments with *Bacillus sphaericus* on Anopheles populations and the transmission of malaria in Maroua, a large city in a savannah region of Cameroon. Journal of the American Mosquito Control Association 14, 33–39.

**10. Becker, N. et J. Margalit. 1993.** Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies. pp. 147-170. Dans *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey et S. Higgs (Eds.), John Wiley & Sons Ltd.

**11. Becker, N., M. Zgomba, M. Ludwig, D. Petric et F. Rettich. 1992.**

Factors influencing the efficacy of the microbial control agent *Bacillus thuringiensis israelensis*. Journal of the American Mosquito Control Association. 8: 285-289.

**12. Becker, N. et H. W. Ludwig. 1983.** Mosquito control in West Germany. Bulletin of the Society of Vector Ecology. 8: 85-93.

**13. Boisvert, Jacques, Lacoursière, Jean O., 2004,** Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec, Québec, ministère de l'Environnement, Envirodoq no ENV/2004/0278, 101 p., document préparé par l'Université du Québec à Trois-Rivières pour le ministère de l'Environnement du Québec.

- 14. Brumpt E., (1949).** Précis de Parasitologie (6th Edition): *Edition Masson, Paris, pp.2138.*
- 15. Car, M. et F. C. de Moor. 1984.** The response of Vaal River drift and benthos to *Simulium* (Diptera: Nematocera) control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 51: 155-160.
- 16. Carpenter MJ & Ware GW. (2004).** *Defending Pesticides in Litigation, 14 th Ed. West Thomson. St. Paul Muller, pp. 763.*
- 17. Charbonneau, C. S., R. D. Drobney, and C. F. Rabeni. 1994.** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environ Toxicol Chem* 13:267–279. CrossRef, CSA
- 18. Charles, J.-F., and H. de Barjac. 1982.** Sporulation et cristallogénèse de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en microscopieélectronique.e électronique. *Ann. Inst. Pasteur Mic.* **133**:425-442.
- 19. Charles, J. F. & C. Nielsen-LeRoux, 1996.** Les bactéries entomopathogènes : mode d'action sur les larves de moustiques et phénomènes de résistance. *Annales de l'Institut Pasteur* 7: 233-245.
- 20. Cheung, P. Y. K, B. D. ., D. Buster Hammock, R. M. Roe et A. R. Alford. 1986.** *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*  $\delta$ -endotoxin: evidence of neurotoxic action. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 27: 42-49.
- 21. Cheung, P. Y. K. et B. D. Hammock. 1985.** Micro-lipid-droplet encapsulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*  $\delta$ -endotoxin for control of mosquito larvae. *Applied and Environmental Microbiology.* 50: 984-988.

- 22. Chilcott, C., B. H. Knowles, D. Ellar et F. A. Drobniowski. 1990.** Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis israelensis* parasporal body. pp. 45-65. Dans Bacterial control of mosquitoes and black flies: biochemistry, genetics and applications of *Bacillus thuringiensis israelensis* and *Bacillus sphaericus*. H. de Barjac and D. J. Sutherland (Eds.), Rutgers University Press, New Brunswick. 55S b 6 p.
- 23. De Meillon, B. (1934).** Observations on *Anopheles funestus* and *Anopheles gambiae* in the Transval. *Publications of South African Institute of Medical Research* 6, 195.
- 24. Doumbia S., (1989).** Contribution à l'étude épidémiologique du paludisme des bilharzioses et des parasitoses intestinales dans un quartier périurbain de Bamako : Banconi. *Thèse de médecine, Ecole de Médecine et de Pharmacie, Bamako, Mali, pp.96.*
- 25. Dolo G, 1996.** Cytogénétique, génétique moléculaire et simulation par ordinateur de la dispersion du complexe vecteur du paludisme à Banambani, MALI.(Arrondissement central de Kati). *Thèse de Doctorat de spécialité de l'ISFRA Spécialité : Entomologie et parasitologie médicales.*
- 26. Fillinger U, Sonye G, Killeen GF, Knols BG & Becker N (2004)** the practical importance of permanent and semi-permanent habitats for controlling aquatic stages of *Anopheles gambiae* sensu lato mosquitoes: operational observations from a rural town in western Kenya. *Tropical Medicine and International Health* 9, 1274–1289.
- 27. Gentilini, M. & Duflo, B. (1986).** Médecine Tropicale. Paris: Flammarion Médecine Science.
- 28. Gillies MT & DeMeillon B (1968)** the Anophelinae of Africa South of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). South

African Institute of Medical Research, Johannesburg, pp. 1–343.

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

**30. Goldberg, L.J. and J. Margalit. 1977.** A Bacterial Spore Demonstrating Rapid Larvicidal Activity Against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex univittatus* Mosq. News. 37:355-358.

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

**32. Höfte H & Whiteley HR (1989)** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol Rev*, 53: 242-255.

**33. Kroeger A, Horstick O, Riedl C, Kaiser A & Becker N (1995)** The potential for malaria control with the biological larvicide *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) in Peru and Ecuador. *Acta Tropica* 60, 47–57.

**34. Killeen GF, Fillinger U, Kiche I, Gouagna LC & Knols BG (2002a)** Eradication of *Anopheles gambiae* from Brazil: lessons for malaria control in Africa? *Lancet Infectious Diseases* 2, 618–627.

**35. Killeen GF, Knols BG & Gu W (2003)** Taking malaria transmission out of the bottle: implications of mosquito dispersal for vector-control interventions. *Lancet Infectious Diseases* 3,297–303.

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

- 37. Lüthy, P. et H. R. Ebersold. 1981.** *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin: histopathology and molecular mode of action. pp. 235-267. Dans Pathogenesis of invertebrate microbial diseases. E. W. Davidson (Ed.), Totowa, N.J.
- 38. Macdonald G., (1957).** The Epidemiology and Control of Malaria. *Oxford University Press: London.*
- 39. Mahmood, F.** 1998. Laboratory bioassay to compare susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Anopheles albimanus* to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as affected by their feeding rates. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 14:69-71.
- 40. Margalit, J. et H. Bobrogloi. 1984.** The effect of organic materials and solids in water on the persistence of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Zeitschrift fuer Angewandte Entomologie.* 97: 516-520.
- 41. Martin, P.A.W. 1994.** An iconoclastic view of *Bacillus thuringiensis* ecology. *Am. Entomol.* 40(1): 85-90.
- 42. Mattingly P. F., (1969).** The biology of mosquito-borne disease, in The science of biology, *Series I, ed by Carthy J D and Sutcliff J D , Allen & Unwin, London, pp 13-183.*
- 43. Minakawa N, Sonye G & Yan G (2005)** Relationships between occurrence of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) and size and stability of larval habitats. *Journal of Medical Entomology* 42, 295–300.
- 44. Miura, T., R.M. Takahashi and F.S. Mulligan. 1980.** Effects of the Bacterial Mosquito Larvicide *Bacillus thuringiensis* Serotype H-14 on Selected Aquatic Organisms. *Mosq. News* 40(4):619-622.

- 45. Mulla, M. S. 1990.** Activity, field efficacy, and use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquito. pp. 134-160 Dans Bacterial control of mosquitoes and black flies: biochemistry, genetics and applications of *Bacillus thuringiensis israelensis* and *Bacillus sphaericus*. H. de Barjac and D. J. Sutherland (Eds.), Rutgers University Press, New Brunswick.
- 46. Mulla, M. S., B. A. Federici, H. A. Darwazeh et L. Ede. 1982b.** Field evaluation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis* ser. H-14 against floodwater mosquitoes. Applied and Environmental Microbiology. 43: 1288-1293.
- 47. Nayar, J. K., J. W. Knight, A. Ali, D. B. Carlson et P. D. O'Bryan. 1999.** Laboratory evaluation of biotic and abiotic factors that may influence larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* against two Florida mosquito species. Journal of the American Mosquito Control Association. 15: 32-42.
- 48. Nosais J. P, Datry A., Danis M. (1996).** Traité de parasitologie médicale. Pradel, Paris, pp817.
- 49. OMS.** Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, 2003.
- 50. OMS (1979) et de Maffei (1997) tests d'impact sur les Culicidae et les Simulidae (Diptères cibles)**  
[www.parc-camargue.fr/Francais/upload/Demoustication\\_impactBti.pdf](http://www.parc-camargue.fr/Francais/upload/Demoustication_impactBti.pdf)
- 51. OMS, (1995).** Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS. Lutte contre les vecteurs du paludisme et les autres maladies transmises par les moustiques. N° 857, Genève.



**52. OMS (1996).** Diflubenzuron – Genève: *OMS IPCS, Environmental, Health, Gutera, N184.*

**53. Ouologuem T., (1999).** Etude de l'activité larvicide de quelques plantes médicinales du Mali sur les larves d'*Anopheles gambiae s.s.* et *Culex quinquefasciatus*. *Thèse de Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, 88 p.*

**54. PNLP-Mali, 2004.** Rapport de la collecte des données de base pour le suivi et l'évaluation des interventions de lutte contre le paludisme.

**55. Purcell, B. H... 1981.** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some non-target organisms in the salt marsh. *Mosquito News.* 41: 476-484.

**56. Ramoska, W. A., S. Watts et R. E. Rodrigues. 1982.** Influence of suspended particles on the activity of *Bacillus thuringiensis* ser. H-14 against mosquito larvae. *Journal of Economic Entomology.* 75: 1-4.

**57. Rashed, S. S. et M. S. Mulla. 1989.** Factors influencing ingestion of particulate materials by mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology.* 26: 210-216.

**58. RBM** (Roll back malaria), Last update: 03 August 2006:  
<http://w3.whothai.org/EN/Section3/Section40.htm>

**59. Najera JA & Zaim M (2002)** Malaria Vector Control – Decision Making Criteria and Procedures for Judicious Use of Insecticides. World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme, Geneva, pp. 1–106.

- 60. Skovmand O & Sanogo E (1999)** Experimental formulations of *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis israelensis* against *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in Burkina Faso. *Journal of Medical Entomology* 36, 62-67.
- 61. Senègre G., Jilien J. L. & Gaven B., (1977).** Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens* (L.) dans le midi de la France. *Parasitologia* 19 (1-2), p. 79-94.
- 62. Sinègre, G., M. Babinot, G. Vigo & J. N. Tourenq, 1990.** Sensibilité de trois espèces de *Chironomus* (Diptera) à huit insecticides utilisés en démoustication. *Annales de Limnologie* 26: 65-71.
- 63. Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul S.S, Cox-Singh J, Thomas A and Conway DJ.** A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet* 2004, 363: 1017-1024.
- 64. Sir Mc Gregor (1988).** Malaria vector control: Larviciding, Principles and Practice of Malariology, *Malaria*, 1213- 1226.
- 65. Tabachnick WJ., (2003).** Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *J. Med. Entomol.* 2003 Sep; 40(5):597-606.
- 66. Toure Y. T., Petrarca V., Traore S. F., Coulibaly A., Maiga H. M., Sankare O., Sow M., Di Deco M. A. & Coluzzi M. (1998).** Distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognized taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parasitologia* 40:477-511.

- 67. Touré Y. T.**, 1979. Bioécologie des anophèles (Diptera, Culidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft. Thèse 3<sup>ème</sup> cycle en biologie animale, option entomologie, Centre Pédagogique Supérieur, Bamako, Mali.
- 68. Ware G. W., Whitacre D. M., (2004).** The Pesticide Book, 6<sup>th</sup> Ed. *Meister Media Worldwide, Willom (ISBN1892829- 11 -8), pp. 496.*
- 69. Wu N., Liao G. H., Li D. F., Luo Y. L., Zhong G. M. (1991).** The advantages of mosquito biocontrol by stocking edible fish in rice paddies. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1991 Sep; 22(3):436-42.
- 70. Xu BZ, Becker N, Xianqi X & Ludwig HW (1992)** Microbial control of malaria vectors in Hubei Province, People's Republic of China. *Bulletin of the Society of Vector Ecology* 17, 140–149.
- 71. Yaro A., Adamou A., Crawford J. E, Traoré S. F., Touré A. M., Gwadz R. & Lehmann T. (2006).** Reproductive of female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Comparaison of Molecular Forms. *Journal of Medical Entomology, Vol. 43, Issue 5 (September 2006), pp. 833–839.*

## 9. Annexes

### 9.1 Identification des espèces et des formes moléculaires par PCR

La technique de Fanello C *et al* en 2002

- ❖ **Numéroter les tubes PCR (0.2ml) correspondant au nombre de moustiques à traiter.**
- ❖ Mettre dans chaque tube une patte de moustique tout en prenant soin de relever dans un registre les références (étiquette) du moustique devant le numéro qui lui correspond.
- ❖ Mettre dans chaque tube 24µl de mixture et s'assurer que la patte est complètement submergée dans la mixture.
- ❖ Utiliser un contrôle positif pour M, A, S et un contrôle négatif.
- ❖ Placer les tubes à -20° et attendre à ce que la solution se congèle.
- ❖ **Programmer la machine (programmable thermal Controller) au cycle d'amplification et attendre 94°C. Introduire les micros tubes (0.2) contenant les réactifs nécessaires aux différentes réactions, puis lancer la machine.**
- ❖ Attendre à ce que la machine affiche sur l'écran FOR EVER ou 4°.
- ❖ Reprogrammer la machine à 37°C et ajouter 0.65µl de l'enzyme de digestion Hha I et attendre 6 heures avant de les faire migrer à l'électrophorèse ou bien de les garder à 4°C pour une migration prochaine.

**Tableau 12 :** Composition des réactifs nécessaires pour la mixture à l'identification des espèces et des formes moléculaires d'*An. gambiae s.l.*

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

### Cycle d'amplification

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

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

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

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

AR (*arabiensis*)            5'-AATTGTCCTTCTCCATCCTA - 3'  
UN (universel)            5' -GTGTGCCCCCTTCCTCGATGT- 3'

### **9.3 Electrophorèse de L'ADN**

#### **9.3.1 Préparation du Gel et Interprétation des bandes**

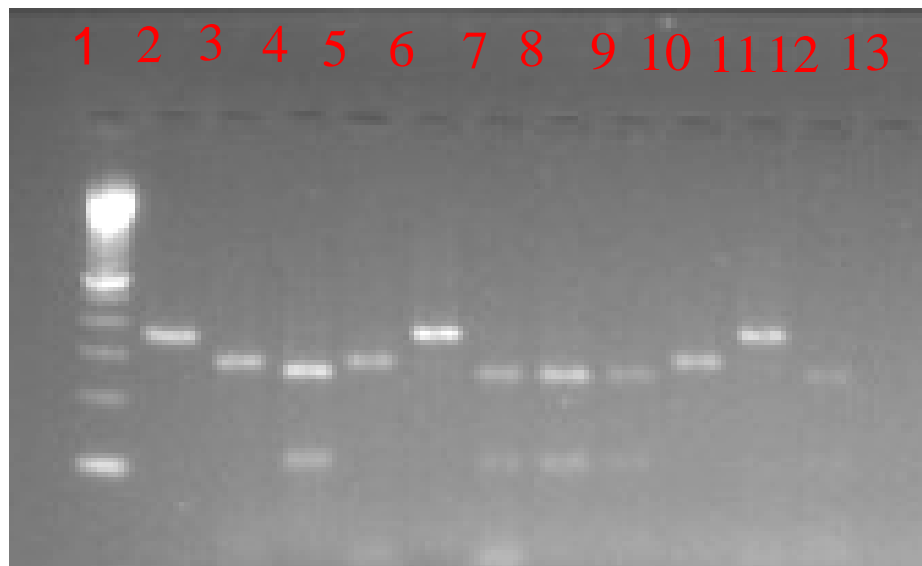
Nous avons préparé un gel d'agarose à 2% sur lequel 10µl d'ADN mélangés à 2µl de Dye (100ml d'H<sub>2</sub>O stérile + 46g de sucrose + 0.25g de bleu de bromophénol) ont été logés par puits.

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

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

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

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



**Figure 15:** identification des espèces et formes moléculaires sur un gel d'agarose.

**Légende**

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

**Tableau 13:** Fiche d'inspection des larves

LARVAL INSPECTION FORM																						
INSPECTOR NAME		HABITAT DETAILS						SAMPLING RESULTS													% VEGETATION COVER & TYPE	
DATE								RELATIVE ABUNDANCE ( ++, +, -)								DIP COUNT						
ZONE		SOURCE				SQUARE		L1		L2		L3		L4		PUPAE	# DIPS	# An		# Cx		
TIME	NUMBER	LOCATION DESCRIPTION				LAT	LON	HABITAT TYPE	SQUARE METERS	An	Cx	An	Cx	An	Cx	An	Cx			# An	# Cx	



**Nom:** BALAM

**Prénom:** Mamadou

**Titre :** Utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) dans le cadre du contrôle des vecteurs du paludisme en milieu rural de Banambani et de N'Gabakoro droit au MALI.

**Année de soutenance :** 2010

**Ville de soutenance :** Bamako

**Pays d'origine :** Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

**E-mail :** [mbalam.mrtc@yahoo.fr](mailto:mbalam.mrtc@yahoo.fr)

**Secteur d'intérêt :** Entomologie et parasitologie médicales

### **Résumé**

Le paludisme étant un problème de santé publique au Mali la lutte anti vectorielle est l'un des axes majeurs de la stratégie d'élimination de la maladie. C'est dans ce cadre, qu'une étude de type longitudinal avec des passages transversaux, a été réalisée d'août 2007 à novembre 2008. Elle avait pour but d'étudier l'activité larvicide de Bti sur les moustiques après traitement des gîtes larvaires dans une zone de 4 km<sup>2</sup> entourant le village de Banambani et de N'Gabakoro droit (site témoins) cercle de Kati.

Au cours de cette étude,

Nous avons déduit la perception des moustiques et la démoustication par l'approche socio-économique, Les moustiquaires simples étaient les plus utilisées dans les deux villages suivis des autres moyens de protection comme les bombes insecticides, les serpentins etc....

Les moustiquaires imprégnées d'insecticides étaient utilisées à des proportions semblables avec 13 % pour N'Gabakoro Droit et 17 % pour Banambani.

L'évaluation des paramètres entomologiques ; et la diminution nette de la densité larvaire après traitement au Bti à Banambani à permis de mettre en évidence l'effet du Bti sur les larves de moustiques.

Donc au vu de tous ces résultats l'utilisation de ce larvicide microbien peut rigoureusement réduire l'exposition humaine aux vecteurs du paludisme en zone rurale.

**Mots clés:** *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), contrôle de vecteurs, paludisme, Mali.

**First Name:** BALAM

**Surname:** Mamadou

**Title:** Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) within the framework of the control of the vectors of malaria in rural medium of Banambani and right Gabakoro in MALI.

**Date:** 2010

**City:** Bamako

**Country:** Mali

**Depository:** Bookcase of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology

**E-mail :** [mbalam.mrtc@yahoo.fr](mailto:mbalam.mrtc@yahoo.fr)

**Area of interest:** Medical Entomology and Parasitology

### **Abstract**

Being a public health problem in Mali the vector anti fight malaria is a major focus of the strategy for the Elimination of the disease. It is within this framework, longitudinal type with transverse passages, study was conducted in July 2001 in May 2005.

It was designed to study larvicide Bti activity on mosquito after hopper Gite treatment in an area of 4 km<sup>2</sup> surrounding the village of Banambani and 'n' Gabakoro right (witnesses site) Kati circle.

In this study, we have deduced the perception of mosquitoes and the demoustication by the socio-economic approach, the simple nets were used in the two villages followed other means of protection such as insecticides bombs, coils etc....

The insecticide-treated nets were used in similar proportions with 'n' Gabakoro law 13% and 17% to Banambani.

The evaluation of the entomological parameters; and the clear reduction in the larval density after treatment Bti with Banambani with made it possible to highlight the effect of Bti on the larvae of mosquitoes.

So in view of these results using this microbial larvicide can rigorously reduce human exposure to the vectors of malaria in rural areas.

**Key words:** *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), vectors control, malaria, Mali.

# SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle en leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession avec conscience et respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !